

**UNIVERSITE MONTPELLIER II
Sciences et techniques du Languedoc
ACADEMIE DE MONTPELLIER**

Dossier présenté par

Michel PETERSCHMITT

**en vue d'obtenir
le diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches**

« L'émergence virale »

Soutenu le 10 mars 2010 devant le jury

BRAULT Véronique
CANDRESSE Thierry
JACQUEMOND Mireille
JACQUOT Emmanuel
NOTTEGHEM Jean Loup
TEPFER Mark

Directeur de Recherche, INRA, Colmar
Directeur de Recherche, INRA, Bordeaux
Directeur de Recherche, INRA, Avignon
Chargé de Recherche, INRA, Rennes
Professeur SupAgro, Montpellier
Directeur de Recherche, INRA, Versailles

Rapporteur
Rapporteur
Evaluateur
Rapporteur
Evaluateur
Evaluateur

Remerciements

Faire des remerciements est toujours un exercice risqué dans lequel on s'expose à des oublis inévitables, tant la liste des personnes qui devraient y être nommées, à différents titres, est longue. C'est pourquoi je commence cet exercice en remerciant tous ceux que je ne vais pas explicitement citer ici, et qui pourtant ont compté pour moi. En dépit du risque évoqué, j'ai voulu me prêter à cet exercice, car les remerciements permettent de me rappeler que la recherche se fait rarement seul et que la recherche en équipe est souvent plus efficace et combien plus conviviale.

Pour commencer, il me faut remercier l'impressionnant professeur, Léon Hirth, qui m'a magistralement ouvert au monde de la virologie quand j'étais étudiant à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg. Ma gratitude va ensuite à mes premiers « maîtres », Bernard Walter (INRA Colmar) et Pierre Baudin (IRAT Montpellier) qui m'ont enseigné les bases de la démarche et de la rédaction scientifique. Je ne peux évoquer ma thèse, sans avoir une pensée reconnaissante à JB Quiot pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et les échanges stimulants qu'il m'a accordés dans le domaine de l'épidémiologie. Je suis également reconnaissant à Michel Dollet qui a été le bâtisseur du laboratoire de virologie au Bâtiment II du CIRAD à Lavalette. C'est également dans ce bâtiment II que j'ai eu le plaisir de monter un laboratoire de biologie moléculaire avec Roger Frutos dans les années 90s, sans oublier le local de confinement que Roger a réussi à décrocher pour les transmissions de gémivirus par vecteur et par agrobactéries. Merci aussi à Drissa Silué qui a été un joyeux collègue de thèse, Marc Muller avec qui nous avons fait tant de virées et Dominique Bordat qui m'a offert une famille d'accueil à Montpellier.

Je remercie ensuite les collègues de l'équipe maïs, qui m'ont permis pendant ma thèse, de travailler avec une équipe pluridisciplinaire dirigée par Jean Leu Marchand et basée à l'Île de La Réunion. Ce groupe, composé d'un entomologiste, Bernard Reynaud, d'améliorateurs et généticiens dont Jean Leu et plusieurs autres dont Jacques Dintinger, m'a donné le goût du travail en équipe. Merci Bernard pour la collaboration que nous avons réussi à pérenniser au-delà de nos travaux communs de thèse et qui ne s'est finalement ralentie qu'avec ton absorption dans la direction du Pôle 3P et de l'UMR PVBM. Merci à Jean Michel Lett d'avoir repris le flambeau de cette collaboration. Je remercie aussi le bouillonnant responsable du laboratoire de Virologie de l'ICRISAT en Inde, DVR Reddy, de m'avoir accueilli en Post Doc dans son laboratoire à Hyderabad, et de m'avoir communiqué sa passion pour la recherche.

Je remercie tous les étudiants que j'ai eu l'occasion d'encadrer. Je les remercie pour leur enthousiasme, leurs questionnements, et pour les questions de recherche qu'ils m'ont aidées à résoudre.

Un énorme merci à Martine Granier pour ses nombreuses compétences capitalisées au fil des années, sa conscience professionnelle, et sa bonne humeur, au service de mes projets de recherches et plus largement de l'équipe. Merci aussi à Dominique Lagrénée, pour son dynamisme, son inventivité et son professionnalisme qui ont été pendant plusieurs années au service du laboratoire de phytovirologie du CIRAD. Merci aussi pour ton assistance efficace lors de l'organisation du congrès AAB en virologie qui s'est tenu au CIRAD à Montpellier.

Dans mon parcours plus récent, je remercie tout particulièrement Stéphane Blanc d'avoir pu faire équipe avec lui au sein de l'UMR BGPI. Ses compétences professionnelles reconnues et son intelligence relationnelle en font un excellent chef d'équipe. Merci à tous les équipiers de « Cagete » qui tous apportent beaucoup de convivialité à la recherche. Merci à Cica Urbino de nous avoir rejoint dans cette aventure.

Je remercie le CIRAD qui m'a donné les moyens matériels, techniques et financiers pour faire de la recherche. Je remercie tous ceux qui participent au fonctionnement harmonieux de l'UMR BGPI où « il fait bon rechercher ».

Je remercie très affectueusement ma famille, Joëlle et Simon, qui m'accordent suffisamment de liberté pour me consacrer pleinement à mes activités professionnelles.

Ces remerciements seraient incomplets, s'il ne m'était pas permis sur cette page, à la fois personnelle et informelle, de rendre hommage au Dieu de Jésus Christ, source de toute vie.

Enfin, je remercie les rapporteurs et évaluateurs qui ont accepté de me faire profiter de leur expertise pour évaluer ma capacité à diriger des recherches, sur la base de ce document.

Sommaire

Chapitre 1 : Présentation générale

1.1 Etat Civil	1
1.2 Diplômes	2
1.3 Activités de recherche et parcours professionnel	3
1.4 Activités d'encadrement et de co-encadrement	4
1.5 Participation à des jurys et comité de thèse	6
1.6 Participation à des jurys de DAA, DESS, EITARC et Maîtrise	6
1.7 Activités d'enseignement	8
1.8 Evaluation de manuscrits et de projets	8
1.9 Missions	9
1.10 Co-organisation de congrès	10
1.11 Expertises	10
1.12 Animation de la recherche	10
1.13 Tableau récapitulatif des publications	11

Chapitre 2 : Activités de recherches antérieures

2.1 Préambule : L'émergence, un concept aux multiples acceptions	12
2.2 Introduction	12
2.3 Quelques photos instantanées de cas d'émergence....	14
2.3.1 L'émergence virale provoquée par l'introduction d'une espèce exotique de plante hôte	14
2.3.2 L'émergence d'un virus inclassable dans la taxonomie actuelle	15
2.4 Des photos successives ou le reportage d'une émergence en milieu insulaire	16
2.5 Les vecteurs de virus, complices malgré eux des émergences virales	17
2.5.1 L'adaptation d'un virus à son vecteur	18
2.5.2 Emergence virale provoquée par le déplacement à longue distance du vecteur	20

Chapitre 3 : Activités en cours et projet scientifique

Mutation et recombinaison, les moteurs de l'émergence

3.1 Contexte scientifique et résultats	23
3.1.1 Mutation	23
3.1.2 Recombinaison	26
3.2 Projet	29
3.2.1 Flux de gènes entre deux espèces virales	30
3.2.1.1 Caractérisation de la relation entre le flux de gène et le pourcentage de cellules co-infectées.	30
3.2.1.2 Les begomovirus contrôlent ils le niveau de coinfection ?	31
3.2.1.3 Impact de la transmission par vecteur sur la fréquence de co-infection et sur le flux de gène.	32
3.2.2 Potentiel d'émergence des recombinants	33
3.3 Conclusion générale	36
3.4 Références bibliographiques citées dans les chapitres 2 et 3	36

Chapitre 4 : Publications scientifiques

4.1 Mémoires	41
4.2 Articles dans des revues internationales à comité de lecture	41
4.3 Chapitres d'ouvrages	43
4.4 Articles dans des revues sans comité de lecture	44
4.5 Communications à des congrès	45

**CHAPITRE 1 :
PRESENTATION
GENERALE**

1.1 Etat Civil

NOM :	PETERSCHMITT
PRENOM :	Michel
DATE ET LIEU DE NAISSANCE	20 septembre 1960 à Colmar
NATIONALITE	Française
SITUATION FAMILIALE	Marié, 1 enfant
ADRESSE PERSONNELLE	9, rue de Plan Guirard, 34830 Clapiers
SITUATION PROFESSIONNELLE	Chercheur (Cat 7) au CIRAD, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
ADRESSE PROFESIONNELLE	CIRAD, UMR BGPI TA A54/K Campus International de Baillarguet 34398 Montpellier Cedex 5 France
TELEPHONE	33 (0) 4 99 62 48 47
TELECOPIE	33 (0) 4 99 62 48 12
ADRESSE ELECRONIQUE	michel.peterschmitt@cirad.fr

1.2 Diplômes

DEUG B		<i>ULP Strasbourg</i>	1980
"Science de la nature et de la vie".			
LICENCE		<i>ULP Strasbourg</i>	1981
« Biologie Cellulaire et Physiologie Végétale »			
Biochimie I			
Biochimie II			
Physiologie I			
Virologie	AB		
MAITRISE		<i>ULP Strasbourg</i>	1982
« Physiologie Végétale et de Biochimie »			
Biochimie III	AB		
Biochimie IV	AB		
Physiologie II	AB		
Physiologie III	B		
Bactériologie			
DEA			
« Phytopathologie » (1983)	B	<i>Université Paris XI</i>	1983
THESE	Très Honorable	<i>Université Paris XI</i>	1988

1.3 Activités de recherche et parcours professionnel

- Stage de DEA (1983) réalisé à l'INRA de Colmar sous la direction de Bernard Walter

Sujet: Détection et élimination de virus infectant des clones africains et américains de manioc.

- Thèse de Doctorat en Science (1984-1988) réalisé au CIRAD à Montpellier sous la direction de Pierre Baudin, et à l'IBMC de Strasbourg pour la préparation d'anticorps monoclonaux, sous la direction de Monsieur Van Regenmortel. Les travaux de terrain ont été réalisés à la station CIRAD de Saint Pierre à l'Ile de La Réunion.

Sujet : Identification sérologique et dynamique du *Maize streak virus* dans le maïs et dans le vecteur *Cicadulina mbila*.

- Contrat Post-doctoral (1988 – 1990) réalisé à l'International Crop Research Institute for the Semi- Arid Tropics (ICRISAT) à Hyderabad en INDE

Sujet : Identification of viruses infecting sorghum in India

- Chercheur au CIRAD (1990-) affecté à Montpellier

Projets achevés :

- Diversité et évolution des mastrevirus du groupe africain
- Caractérisation de la transmission du Maize streak virus par *Cicadulina mbila*
- Caractérisation d'un virus apparenté au tenuivirus et infectant le maïs en Egypte
- Suivi de l'expansion géographique du Tomato yellow leaf curl virus et démonstration du risque de dissémination par les fruits
- Analyse de population de *Bemisia tabaci*, vecteur de begomovirus.
- Identification d'un nouveau groupe de begomovirus de la tomate dans les îles du Sud Ouest de l'Océan Indien
- Evolution du TYLCV en milieu insulaire

Projets en cours :

- La recombinaison chez les begomovirus: impact sur le phénotype viral et risques d'émergence
- Caractérisation de la transmission du Tomato yellow leaf curl virus par *Bemisia tabaci*

1.4 Activité d'encadrement et de co-encadrement

1.4.1 Thèse

ISNARD M. (1994-1997). Variabilité intra et inter isolats du Maize streak virus: analyse moléculaire et étude du pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat (Université Montpellier II) co-encadrée avec Max Bergoin (Professeur à l'Université Montpellier II) et soutenue le 27/02/98.

BIGARRE L. (1996-1999). Diversité des géminivirus et interactions avec leurs hôtes. Thèse de Doctorat (Université Paris XI) co-encadrée avec Michel Nicole (Chercheur IRD) et soutenue le 15/12/99.

LETT J.M. (1997-2000). La transmission du *Maize streak mastrevirus* (*Geminiviridae*) par *Cicadulina mbila* Naudé (*Auchenorrhyncha*, *Cicadellidae*) sur maïs (*Zea mays ssp. mays*): Comportement alimentaire de la cicadelle et dynamique du virus dans le vecteur. Thèse de Doctorat (Institut National Agronomique Paris-Grignon) co-encadrée avec Jean Loup Notteghem (Professeur à l'ENSAM) et soutenue le 27/11/00.

MAHMOUD A.H. (1995-2001). Biological and molecular characteristics of maize yellow stripe virus and its relationship with the leafhopper vector. PhD Thesis (Cairo University) co-encadrée avec Desouky Ammar (Professeur à l'Université du Caire) et soutenue le 30/05/01.

DELATTE H. (2001-2005). Study of the pathosystem: Begomovirus/ *Bemisia tabaci*/ tomato on the South West islands of the Indian Ocean. PhD Thesis (Wageningen University) co-encadrée avec Rob Goldbach (Professeur à l'Université de Wageningen et Bernard Reynaud, directeur de l'UMR PVBMT) et soutenue le 15/06/05.

MUKHTAR S.K. (2002- 2006) Molecular identification and field management of Tomato leaf curl Sudan virus. PhD Thesis (Université de Khartoum) co-encadrée avec Ahmed Hashim Ahmed (Professeur à l'Université de Khartoum) et soutenue en 2006.

DALMON A. (2005- 2007). Etude de virus émergents des cultures maraîchères et de leurs aleurodes vecteurs. Evaluation du risque phytosanitaire. Thèse de Doctorat (Luminy, Marseille) co-encadrée avec Mireille Jacquemond et Hervé Lecoq (Directeurs de Recherche à l'INRA) et soutenue le 20/12/07.

LEFEUVRE P. (2006- 2008) Importance de la recombinaison dans la diversité génétique, l'évolution moléculaire, et les risques épidémiologiques: cas des bégomovirus exotiques et endémiques des cultures maraîchères du sud-ouest de l'océan Indien. Thèse de Doctorat (Saint Denis, Réunion) co-encadrée avec Jean Michel Lett (chercheur CIRAD) et Bernard Reynaud (directeur de l'UMR PVBMT) et soutenue le 29/10/08.

TAHIRI A. (2004-). Suivi spatio-temporel des populations de virus et de vecteur impliquées dans la virose des feuilles jaunes en cuillère de la tomate dans le nord-est du Maroc et analyse de facteurs intervenant dans sa dissémination. Thèse de Doctorat (Université Moulay Ismaïl de Meknès, Maroc) co-encadrée avec Amina Benani (Professeur à l'Université de Meknès). Soutenance prévue pour 2009.

VUILLAUME F. (2008-) La recombinaison chez les begomovirus: impact sur le phénotype viral et risques d'émergence. Thèse de Doctorat (SupAgro Montpellier) co-encadrée avec Stéphane Blanc (Directeur de Recherche à l'INRA). Soutenance prévue pour 2010.

1.4.2 DEA

BIGARRE (1994). Localisation in situ du Maize streak virus (MSV) dans un maïs hybride sensible et une lignée résistante. DEA (Université Paris XI) co-encadré avec Michel Nicole (Chercheur IRD) et soutenue en 1994.

TAHIRI A. (2001- 2003). Etude de la diversité du virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (TYLCV) et de son vecteur *Bemisia tabaci* (Gennadius). Mémoire pour l'obtention du Diplôme des Etudes Supérieures Approfondies (Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences de Kenitra, Maroc), soutenue en septembre 2003.

1.4.3 Maîtrise

ACHARD J.L. (1995). Extraction et participation au clonage de l'ADN d'un isolat de Maize streak virus infectant *Coix lacryma jobi*. Rapport de stage (Université Montpellier II, Maîtrise BOP, option Parasitologie) présenté le 22/06/95.

LETT J.M. (1996). Caractérisation du comportement alimentaire de *Cicadulina mbila* (Naude, 1924) (Homoptère : Cicadellidae) sur maïs (*Zea mays ssp. mays*) par microscopie électronique, corrélée à l'étude réalisée en électropénéthrographie. Rapport de stage (Université Montpellier II, Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes) présenté en 1996.

1.4.4 Stage de formation professionnelle

DRIDER D. (1994). Initiation aux techniques de base en biologie moléculaire. (Formation continue de l'ENSAM).

1.5 Participation à des jurys et comité de thèse

1.5.1 Jury de thèse

1.5.1.1 Participation en tant qu'évaluateur.

MATTHIEU R. (2008). Impact de la capacité nécrogène sur la valeur adaptative du virus Y de la pomme de terre. Thèse de doctorat de l'AGROCAMPUS OUEST, Renne, encadré par Emmanuel Jacquot et soutenue le 2 décembre 2008

1.5.1.2 Participation en tant que rapporteur.

SCHNIPPENKOETTER W. H. (1997). The use of agroinfectious clones to investigate recombination between distinct Maize streak virus strains. PhD de l'Université de Cape Town, encadré par le Professeur Ed Rybicki.

PERVEEN R. (2004). Some aspects of epidemiology of cotton leaf curl begomovirus in Pakistan. PhD de l'Université de Faisalabad, encadré par le Professeur S.M. Khan, et les Drs A. Khan, A. Parvaiz, S. Mansoor.

VAN DER WALT E. (2008). Experimental investigations of Mastrevirus molecular biology and evolution. PhD de l'Université de Cape Town, encadré par le Professeur Ed Rybicki et Darren P. Martin.

1.5.2 Comités de thèse

ABU AHMAD Y. (2006). Diversité génétique et variabilité du pouvoir pathogène du Sugarcane yellow leaf virus, agent causal de la feuille jaune de la canne à sucre. Thèse de doctorat de l'Ecole National Supérieure Agronomique de Montpellier, soutenue le 22 septembre 2006.

SORHO F. (2006). La panachure jaune du riz (RYMV) en Afrique de l'Ouest : Phylogéographie, pathogénie et durabilité des résistances naturelles. Thèse de doctorat de l'Université de Cocody, soutenue le 9 septembre 2006.

LACROIX C. (2007-). Impact de différents allèles du gène de résistance "va" sur les populations virales du virus Y de la pomme de terre. Thèse de doctorat de l'AGROCAMPUS OUEST, Renne, débuté le 1^{er} mars 2007.

1.6 Participation à des jurys de DAA, DESS, EITARC et Maîtrise :

RASOANARY M. (1990). Application d'un test immuno- enzymatique à l'étude de la résistance du riz au Rice yellow mottle virus. Présentation d'un Mémoire de fin d'étude de l'Ecole d'Ingénieur des Techniques Agricoles des Régions Chaudes (EITARC) du CNEARC.

PATERNELLE M.C. (1993). Analyse spatio-temporelle de pathosystème TSWV/ Frankiniella occidentalis/ Callistephus chinensis en plein champ à La Réunion. Mémoire de

fin d'étude pour l'obtention du Diplôme d'Agronomie Générale de l'ENSAIA de Nancy, présenté le 29 septembre 1993.

LEFRERE P. (1993). Importance des conditions d'inoculation du Maize streak virus par *Cicadulina mbila* pour l'évaluation de la résistance du maïs à la striure. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme d'Agronomie Approfondie de l'ENSAIA de Nancy, présenté le 29 septembre 1993.

THORNARY L. (2000). Caractérisation de la diversité de génétique et biologique de *Bemisia tabaci* Gennadius à La Réunion. DESS de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.

LECOQ J. (2001). Caractérisation du comportement alimentaire de *Peregrinus maidis* (Ashmead, 1890) en relation avec la résistance du maïs (*Zea mays*, L) au Maize stripe virus. DAA inter-écoles ENSAM, ENSAR, INA-PG.

RODIER B. (2001). Identification des plantes réservoirs et études de pucerons vecteurs du virus de la mosaïque du concombre dans les cultures de vanilliers Tahiti (*Vanilla tahitensis*, J.W. Moore) aux îles sous le vent (Polynésie française). DAA inter-écoles ENSAM, ENSAR, INA-PG.

HADJ-NACEUR H. (2002) Etude de la diversification moléculaire de quatre isolats de référence du virus de la Sharka (Plum pox virus) inoculés depuis 6 ans à différentes espèces de porte-greffes. DAA inter-écoles ENSAM, ENSAR, INA-PG soutenue le 27 septembre 2002.

NUCCI L. (2003). Etude de la dynamique du Tomato yellow leaf curl virus à travers son vecteur *Bemisia tabaci* (Gennadius). Maîtrise de Phytoprotection, Université d'Avignon.

COUSTON L. (2004) Etude de la persistance, de la dynamique et de la transmission transovarienne du TYLCV à travers son vecteur *Bemisia tabaci* (Gennadius). Maîtrise de l'IUP Agrosiences, Université d'Avignon.

TRIBOIRE A. (2005) Influence de la température sur le développement des biotypes B et Ms de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1989) à l'Ile de La Réunion. DAA de l'ENSAT de Toulouse.

1.7 Activités d'enseignement

CNEARC- Montpellier	2H00/an	1996- 2003
Sujet: Etude du <i>Maize streak virus</i> en relation avec la sélection de variétés résistantes		
DEA Ressources phytogénétiques et interactions biologiques DEA RPI- ENSAM - Université Montpellier II	1H30/an	1999- 2004
Sujet: Evolution des géminivirus Emergence de nouveaux virus : cas des nano- et geminivirus		
DEA IPM, Orsay,	2H00	2002
Sujet: Emergence de nouveaux virus : cas des nano- et geminivirus		
ENSAM, étudiants de 2 ^e année.	3H00	2004
Sujet : Module de virologie végétale.		

1.8 Evaluation de manuscrits et de projets

1.8.1 Manuscrits évalués pour les revues suivantes:

- African Plant Protection
- Annals of Applied Biology
- Archives of Virology
- Bulletin of Entomological Research
- Canadian Journal of Plant Pathology
- Environmental Entomology
- European Journal of Plant Pathology
- Journal of Virological Methods
- Journal of Phytopathology
- Journal of Plant Pathology
- Plant Pathology

1.8.2 Projets évalués pour les bailleurs de fond suivants:

- ANVAR
- BARD (Binational Agricultural Research Development Fund, USA- Israël)
- National Science Foundation.

1.9 Missions

1991: INERA, Burkina Faso; préparation du montage d'un projet CEE (STD III) sur les viroses du maïs. Prospection de terrain et évaluation du potentiel de recherche.

1994-1999: Plusieurs missions en Egypte:

- collaboration CIRAD- IRD sur l'étude de virus de la canne à sucre, de Malvacées et du maïs; co-encadrement d'un VSN post-DEA basé au laboratoire franco-égyptien de l'IRD
- Expertise en phytovirologie pour le Programme Canne à Sucre du CIRAD dans le cadre d'un contrat signé entre le CIRAD et le Sugar Crop Research Institute (SCRI).
- Encadrement d'un VSN post-DEA, basé au SCRI au Caire

1995 et 1996: Missions au John Innes Centre, Norwich, Royaume Uni; collaboration avec le Dr. PJ Markham (Programme d'Action Intégré Alliance). Comparaison de clones et d'isolats de MSV provenant d'Afrique et de La Réunion sur une gamme de variétés de maïs.

2001- 2006 : Cinq missions au Maroc dans le cadre d'une collaboration PRAD (Projet Agronomique pour le Développement, PRAD 01-14, PRAD 04-04) avec l'Ecole National d'Agriculture (ENA) de Meknès. Les missions ont été consacrées à:

- Expertise sur l'émergence du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) au Maroc
- Prévalence du TYLCV et de son vecteur, *Bemisia tabaci*, au Maroc
- Mise en place d'essai pour déterminer les facteurs qui interviennent dans la dissémination du TYLCV et notamment les activités saisonnières de vol de *B. tabaci*.
- Encadrement des travaux de DESA (Diplôme des Etudes Supérieures Approfondies) et de thèse de Abdesslem Tahiri, professeur de phytovirologie à l'ENA.
- Définition et suivi des travaux de 4 étudiants de troisième cycle de l'ENA dont les travaux de recherche ont porté sur la problématique TYLCV.
- Accompagnement de l'installation d'un laboratoire de virologie à l'ENA

2002- 2006 : Missions dans les Caraïbes dans le cadre d'un projet européen INCO intitulé : « Begomovirus disease management for sustainable production of tomato in the Caribbean ». Ma mission était principalement centrée sur l'analyse des populations du vecteur des begomovirus, *Bemisia tabaci*.

2004 : Mission en Espagne. Rencontre des partenaires espagnols d'un projet européen Interreg sur le contrôle et la prévention des virus transmis par *Bemisia tabaci* en cultures horticoles. Cette collaboration et ce projet ont été mis en place suite à l'émergence du TYLCV en Roussillon lors de la canicule de l'été 2003.

2007 : Mission en Israël. Rencontre des experts israéliens du TYLCV et du vecteur *Bemisia tabaci* dans le cadre d'un projet bilatéral franco-israélien du High Council for Scientific and Technological Cooperation between France-Israel Research Network Program in Sustainable Agriculture.

2008 : Mission en Espagne. Réunion de travail du groupe "Tomato case study" du réseau européen "Endure". Préparation d'une brochure sur la protection intégrée des tomates en Europe : « Implementation of IPM programs on European greenhouse tomato production areas ; tools and constraints »

1.10 Co-organisation de congrès

Co-organisateur du congrès AAB « Advances in Plant Virology » qui s'est tenu à Montpellier du 29 septembre au 1^{er} octobre 2003

1.11 Expertises

1.11.1 Expertises techniques

- Identification moléculaire de begomovirus de la tomate pour les **Services de la Protection des Végétaux** de La Réunion et de Montfavet et la **Société Agricole de Service au Maroc (SASMA)** Casablanca (1997-2000).

- Expertise en phytovirologie pour le **European Biological Control Laboratory** (EBCL, USDA) dans le cadre d'un projet de lutte intégrée contre une plante adventice (1999- 2000).

- Biotypage de *Bemisia tabaci* pour des instituts techniques (**CTIFL-APREL, GIE, SCRADH**) et pour la société **Syngenta** (2003- 2007).

1.11.2 Expertise pour l'analyse de risques phytosanitaires (2003)

Estimation de risque phytosanitaire pour la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Il s'agissait d'estimer le risque que représente 14 phytovirus et 1 viroïde pour les DOM : Bamboo mosaic virus, Chrysanthemum stunt viroid, Chrysanthemum virus B, Hibiscus chlorotic ringspot virus, Hibiscus latent ringspot virus, Impatiens necrotic spot virus, Lettuce mosaic virus, Lettuce necrotic yellows virus, Potato yellow mosaic virus, Tobacco etch virus, Tobacco leaf curl virus, Tobacco streak virus, Tomato aspermy virus, Tomato bushy stunt virus, Tomato spotted wilt virus.

1-12 Animation de la recherche

- Responsable du laboratoire de virologie mixte CIRAD-IRD, le LPRC (Laboratoire de phyto-virologie des régions chaudes) de 1999- 2000.

- Coordonnateur de deux projets obtenus sur des appels à projet du CIRAD (ATP) :

- 1- Analyse des composantes de la résistance des plantes et applications à l'amélioration variétale (1994- 1995)

- 2- Etude moléculaire de la variabilité et de la pathogénie de micro-organismes de plantes et d'animaux: application au diagnostic (1997- 2000)

- Participation à la création d'un laboratoire de biologie moléculaire au CIRAD pour les activités en protection des cultures (1991- 1993).

- Animateur du groupe TYLCV au sein de l'équipe 2 de l'UMR-BGPI (depuis 2004)

1.13- Tableau récapitulatif des publications dans des revues internationales à comité de lecture

Revue	Facteur d'impact 2007	Nombre de publications
Annual Review of Phytopathology	10,778	1
Heredity	4,065	1
Journal of Molecular Evolution	3,234	1
Journal of General Virology	3,120	4
Phytopathology	2,377	1
Genetical Research	2,164	1
Plant Pathology	2,012	1
Virology Journal	1,930	1
Archives of Virology	1,839	7
Plant Disease	1,790	7
Annals of Applied Biology	1,752	4
Entomologia Experimentalis et Applicata	1,483	1
European Journal of Plant Pathology	1,482	2
Bulletin of Entomological Research	1,431	1
Journal of Applied Entomology	1,030	1
Journal of Plant Pathology	0,974	1
Total		35

**CHAPITRE 2 :
ACTIVITES
DE RECHERCHE
ANTERIEURES**

2 Activités de recherche antérieures

Les références bibliographiques citées dans les chapitres 2 et 3 sont groupées dans une liste unique présentée au paragraphe 3.4

2.1 Préambule

J'ai pris le risque d'intituler mon mémoire d'HDR avec un concept très à la mode mais souvent flou, à savoir « l'Emergence virale ». La faiblesse mais peut être aussi la force de ce concept vient de ce qu'il couvre une large gamme de situations dont les principales sont données ci-dessous.

- (a) Emergence d'une espèce ou souche virale **connue** mais dans une **région nouvelle**
- (b) Emergence d'une espèce ou souche virale **connue** sur une **espèce hôte nouvelle**
- (c) Emergence d'une espèce ou souche virale **connue** mais dans des **proportions nouvelles**
- (d) Emergence d'une espèce ou souche virale **inconnue**, éventuellement par recombinaison de deux espèces ou souches virales qui ont été amenées à partager le même biotope
- (e) Emergence d'une souche virale **inconnue** au sein d'une espèce connue, présentant une valeur sélective et une virulence accrues et éventuellement capable de surmonter une résistance.

L'utilisation du mot « émergence » est cependant discutable dans des situations où la soi disant émergence d'un nouveau virus est simplement liée à l'arrivée d'un virologue pionnier qui se penche sur un agroécosystème qui n'avait jamais été regardé jusqu'alors sous un angle de virologue (situation f), ou encore à l'utilisation de techniques de diagnostic plus sensibles et plus précises que celles qui se pratiquaient avant (situation g).

Ayant parfois été le virologue pionnier en question, avec dans certains cas, des outils plus performants que ceux de mes illustres prédécesseurs, c'est en englobant cette acception discutable du concept d'émergence que j'ai intitulé mon mémoire d'HDR, « L'Emergence virale ».

2.2 Introduction

Certaines de mes activités en virologie pourraient être décrites comme celle du virologue pionnier qui a « fait émerger » de nouveaux virus, en l'occurrence, sur manioc, maïs, canne à sucre, rose trémière et sorgho (Ammar et al. 2007; Bigarre et al. 1999; Bigarre et al. 2001; Mahmoud et al. 2007; Peterschmitt 1983; Peterschmitt, Ratna et al. 1991). Les symptômes provoqués par ces supposés virus ayant été observés par d'autres, plusieurs années avant que je n'en identifie l'agent causal, je n'étais pas dans le cas de l'émergence d'une nouvelles pathologie comme celle par exemple du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) qui a émergé en 2002 en Asie. En outre, il y a une vingtaine d'années, on ne prenait pas la mesure des capacités d'évolution des virus et plus particulièrement des virus de plantes. C'est ce qui explique que l'émergence n'était pas encore une thématique de premier plan. Schématiquement, les virus constituaient alors un « paysage » immobile dont on faisait des « photographies instantanées » sans vraiment imaginer que des modifications du « paysage » pourraient être décelées si le « paysage » était photographié avec une plus grande résolution. Caractériser de façon définitive une population virale d'un agroécosystème est en fait impossible, car toute population virale est inévitablement et constamment façonnée par diverses forces évolutives, la sélection, la migration, la mutation et la recombinaison.

De part les missions qui m'ont été confiées, les « photos » ont surtout été prises dans différentes régions tropicales ou subtropicales et de préférence dans des zones cultivées; l'émergence d'un nouveau virus à partir de plantes sauvages n'était pas considérée comme un risque sérieux qui devait être pris en compte. Ces « photos » de « paysages » m'ont révélé (i) toute sorte de virus de plantes, souvent classables dans des groupes existants (Bigarre et al. 1999; Bigarre et al. 2001; Delatte et al. 2002; Desbiez et al. 2000; Peterschmitt, Granier, and Aboulama 1999; Peterschmitt et al. 1999), parfois inclassables tel que le Maize yellow stripe virus (Mahmoud et al. 2007), de distribution géographique différentes (localisée ou étendue) (ii) des insectes que les virus ont réussi à mobiliser pour « s'arracher » de l'impasse des cultures annuelles (Ammar et al. 2009; Lett et al. 2001; Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992), et (iii) des cultures plus ou moins vulnérables que l'homme ne se lasse de protéger contre ces parasites indésirables (Peterschmitt et al. 1992).

Ces travaux sur des « paysages » viraux apparemment immobiles, pouvaient toutefois révéler des émergences anciennes, telle que l'émergence du Maize streak virus sur maïs (Peterschmitt et al. 1996; Peterschmitt 2004; Peterschmitt, Reynaud et al. 1991; Varsani et al. 2008), une plante exotique à l'Afrique mais « révélateur » efficace d'un virus strictement africain (Fig. 1). De plus, de ce « paysage » dont la cartographie semblait bien établie à un temps « t », pouvait « émerger », par un sondage plus exhaustif des espèces de plantes potentiellement hôte et à l'aide de techniques de détection plus sensibles, de nouvelles souches et espèces virales. Ce qui est connu à un temps « t » n'est souvent qu'une infime partie de la population virale présente (Bigarre et al. 1999; Bigarre et al. 2001; Delatte, Holota et al. 2005; Delatte et al. 2002; Delatte, Martin et al. 2005; Fargette et al. 2006; Lett et al. 2004).

De prime abord, avec le dogme de la multiplication clonale des virus, le « paysage » pouvait sembler figé, les virus étant reproduit à l'identique au cours du temps. Il suffit cependant de déterminer la séquence nucléotidique de quelques génomes viraux provenant d'une plante inoculée avec un génome unique, pour mettre en évidence des mutants et se rendre compte que la clonalité était loin d'être parfaite (Urbino et al. 2008). C'est cependant, en vertu de cette clonalité, même imparfaite, que certaines de ces formes mutantes, retenues par dérive et/ou par sélection, peuvent à leur tour se maintenir. Ces mutations, éventuellement redistribuées par la recombinaison, un phénomène fréquent chez certains virus (Delatte, Martin et al. 2005), font émerger des virus aux phénotypes nouveaux, avec pour conséquence possible, une accumulation accrue dans la plante, ou une transmission plus efficace (Vuillaume, projet de thèse en cours).

Les travaux effectués par la suite se sont attachés à détecter ces changements de « paysage », par comparaison de « photos » prises successivement. De spectaculaires changements sont ainsi discernés dans la distribution géographique et la composition des populations de Tomato yellow leaf curl virus (Delatte, Lett et al. 2007; Delatte, Holota et al. 2005; Delatte, Holota et al. 2007; Peterschmitt, Granier, and Aboulama 1999; Peterschmitt et al. 1999) et de son vecteur *Bemisia tabaci* (Dalmon et al. 2008).

Pour mieux comprendre ces changements, nous avons exploré la capacité de transmission de certains virus (Ammar et al. 2009; Ammar et al. 2007; Delatte et al. 2003; Lett et al. 2001; Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992) et suivi le changement de composition d'une population virale en fonction de son mode de transmission et de son environnement (Isnard et al. 1998; Urbino et al. 2008). Enfin les recherches en cours et en projet consistent à estimer

les effets de la recombinaison virale, un des mécanismes les plus efficaces, utilisé par certains virus, pour assurer une descendance dans des environnements en perpétuel changement.

2.3 Quelques « photos instantanées » de cas d'émergence....

J'ai eu l'occasion de faire des explorations dans trois sites géographiques au cours de mes études en virologie, une région insulaire, La Réunion, et quatre régions continentales, par ordre chronologique, l'Inde, l'Egypte, le Maroc, ainsi que la France mais uniquement en ce qui concerne un vecteur de virus. Pour illustrer ce type d'exploration, j'ai choisi deux « photos » qui me semblent illustrer deux situations contrastées d'émergence. La première illustre le phénomène d'émergences virales par déplacement d'hôtes potentiellement sensibles, la deuxième concerne l'émergence d'un virus n'appartenant à aucun des genres viraux de la classification officielle de l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses).

2.3.1 L'émergence virale provoquée par l'introduction d'une plante hôte exotique

Dès 1901, des symptômes foliaires en stries chlorotiques ont été décrits sur maïs en Afrique australe (Fuller 1901). L'origine de ces symptômes a été attribuée à un agent ultrafiltrable par Storey (Storey 1932) identifié plus tard comme un virion en forme de double icosaèdres, le Maize streak virus (MSV) (Bock, Guthrie, and Woods 1974); le MSV est le membre type des géminivirus (Mastrevirus, Geminiviridae). La striure du maïs a été décrite en plusieurs endroits sur le continent africain, à Madagascar et dans les Mascareignes (Briddon et al. 1994; Dekker et al. 1988; Peterschmitt, Reynaud et al. 1991; Pinner and Markham 1990) mais n'a jamais été détecté dans l'aire d'origine du maïs, le continent américain. Une situation similaire a été décrite pour la striure sur canne à sucre. Cette maladie a été détectée en Afrique et dans les Mascareignes (Bigarre et al. 1999; Hughes, Rybicki, and Kirby 1993) mais jamais en Asie, dans l'aire d'origine de la canne à sucre. Les maladies à striure présentes sur maïs et canne à sucre en Afrique sont des exemples typiques d'une émergence par saut d'hôte, et ceci, non pas par déplacement d'un virus en dehors de son aire d'origine, mais par introduction de plantes potentiellement hôtes dans l'aire d'origine du virus. Ce type d'émergence virale par déplacement de plantes originaires du Nouveau Monde s'est reproduit à mainte reprise, et tout particulièrement dans le groupe des géminivirus. Par exemple, 8 géminivirus de l'Ancien Monde ont été décrits sur manioc en Afrique et dans le sous-continent indien, et une quarantaine sur tomate dans toutes les régions tropicale et subtropicales de l'Ancien Monde, notamment ceux des régions Méditerranéennes et des îles du Sud Ouest de l'Océan Indien sur lesquels je reviendrai ci-dessous (Delatte et al. 2002; Delatte, Martin et al. 2005; Lett et al. 2004; Peterschmitt, Granier, and Aboulama 1999; Peterschmitt et al. 1999; Tahiri et al. 2006).

Initialement, l'espèce « Maize streak virus » était supposée englober toute une gamme de souches plus ou moins adaptées à des espèces de poacées sauvages et cultivées, notamment la canne à sucre, le panicum, la digitale (Ammar and Peterschmitt 2004). Plus récemment avec l'application de méthodes moléculaires au diagnostic viral, les distances génétiques détectées entre ces soi-disant souches étaient telles, moins de 75% d'identité nucléotidique sur l'ensemble du génome, que ces souches ont été élevées au rang d'espèce, telle que le Sugarcane streak virus (Bigarre et al. 1999), ou le Panicum streak virus (Fig. 2). Pour des raisons économiques, les efforts d'échantillonnage ont été les plus importants sur maïs et canne à sucre. Plusieurs souches de Maize streak virus ont été décrites (A, B, F, G, H, I, J, E) mais seule la souche A est adaptée au maïs (Varsani et al. 2008). L'adaptation au maïs de la souche A du Maize streak virus, semble avoir été favorisée par un événement de

recombinaison entre des souches non adaptées au maïs impliquant notamment la souche B (Fig. 2). Cet évènement de recombinaison est détecté sur tous les isolats de la souche A, y compris les plus éloignés géographiquement provenant de l'Ile de La Réunion (Peterschmitt et al. 1996). Cet évènement de recombinaison serait donc antérieur à la différenciation de la population réunionnaise qui est vraisemblablement apparu par dérive suite à un effet de fondation. Cette adaptation de la souche A au maïs aurait favorisé sa mobilité telle que semble l'indiquer une structuration géographique relativement faible par rapport à d'autres souches telle que la souche B. Mais comme le maïs n'est pas multiplié végétativement et que le MSV n'est pas transmis par semence, on ne comprend pas très bien comment les membres de la souche A auraient eu un avantage sélectif par rapport au mouvement à longue distance (Fargette et al. 2006). Il s'agit peut être simplement d'une augmentation de la fréquence des isolats A suite à leur adaptation à un hôte de plus en plus cultivé en Afrique. Contrairement au maïs qui n'est infecté que par une seule espèce de virus et très majoritairement par la souche A, les échantillonnages sur canne à sucre révèle la présence d'au moins 3 espèces distinctes (Fig. 2) (Bigarre et al. 1999). Cette différence du nombre d'espèces virales pourrait provenir des différentes pressions de sélection exercées sur les populations virales par le maïs et la canne à sucre. La forte pression de sélection qu'exerce une plante annuelle telle que le maïs, semble favoriser les virus qui présentent les meilleures caractéristiques pour être transmis par vecteur dans un bref délai avant la récolte de la plante (notamment accumulation virale et localisation favorable dans la plante) et défavoriser les autres. Par contre la pression de sélection exercée par une plante à multiplication végétative semble beaucoup moins contraignante, car même des virus à multiplication lente ou qui ne seraient plus transmis par insecte vecteur pourraient être conservés par bouturage. Il est à noter cependant que la transmissibilité par vecteur a été conservée par des isolats de SSV maintenus pendant 10 ans sur canne à sucre sans transmission par vecteur. Ce résultat illustre la multi-fonctionnalité de la protéine de capsid, la seule protéine virale qui soit indispensable à la transmission par vecteur.

Les travaux sur les espèces de géminivirus infectant la canne à sucre ont été réalisés par **Laurent Bigarré**, un étudiant que j'ai co-encadré en thèse. Les résultats ont été publiés dans l'article suivant :

Bigarre, L., M. Salah, M. Granier, R. Frutos, J. C. Thouvenel, and M. Peterschmitt. 1999. Nucleotide sequence evidence for three distinct sugarcane streak mastreviruses. *Archives of Virology* 144 (12):2331-2344.

2.3.2 L'émergence d'un virus inclassable dans la taxonomie actuelle

Lors d'une enquête sur les maladies virales du maïs en Egypte 1981-1982, une nouvelle maladie a été décrite sous le nom de Maize yellow stripe (Ammar et al. 1990). Les virions associés à cette maladie avaient un aspect de filaments de 5-7 nm qui rappelaient la morphologie des virions observés chez les membres du genre tenuivirus. Par contre ce virus appelé Maize yellow stripe virus (MYSV) était transmis par cicadelle (*Cicadulina chinai*) contrairement à tous les membres du genre tenuivirus qui sont transmis par des delphacides. Pour préciser la classification du MYSV, par rapport au genre tenuivirus, nous avons déterminé son mode de transmission et caractériser son génome. Le MYSV se transmet selon le mode circulant multipliant comme tous les tenuivirus (Fig. 3A) (Ammar et al. 2007). De plus le génome du MYSV est constitué de plusieurs fragments d'ARNs comparables en nombre (5) et en taille (1,6- 10 kb) à ceux des tenuivirus (Fig. 3B) (Mahmoud et al. 2007). Enfin il a été montré pour 4 des 5 fragments d'ARN que les extrémités 5' et 3' sont

complémentaires entre elles, une caractéristique que partage tous les tenuivirus (Fig. 3C). Par contre aucune identité nucléotidique significative n'a été détectée entre le MYSV et les tenuivirus ou même tout autre virus disponible dans les banques. Tenant compte des différences de séquences nucléotidiques et de l'appartenance de leur vecteur à des groupes taxonomiques différents (*Cicadelidae/ Delphacidae*), nous avons proposé de classer le MYSV dans un nouveau genre appelé *Cicatenuivirus*, selon le nom de la famille de son vecteur, *Cicadelidae* (Ammar and Peterschmitt 2004). Le genre *Cicatenuivirus* et l'actuel genre tenuivirus serait alors regrouper dans une nouvelle famille appelée *Tenuiviridae*.

Ces travaux ont été réalisés par **Amal Mahmoud Hussein**, une étudiante que j'ai co-encadrée en thèse. Les résultats ont été publiés dans les articles suivants :

Ammar, E. D., E. A. Khelifa, **A. Mahmoud**, S. E. Abol-Ela, and **M. Peterschmitt**. 2007. Evidence for multiplication of the leafhopper-borne maize yellow stripe virus in its vector using ELISA and dot-blot hybridization. *Archives of Virology* 152 (3):489-494.

Mahmoud, A., M. Royer, M. Granier, E. D. Ammar, and **M. Peterschmitt**. 2007. High genetic identity between RNA 3 segments of an Old World isolate and a New World isolate of Maize stripe virus. *Archives of Virology* 152 (8):1583-1586.

Mahmoud, A., M. Royer, M. Granier, E. D. Ammar, J. C. Thouvenel, and **M. Peterschmitt**. 2007. Evidence for a segmented genome and partial nucleotide sequences of maize yellow stripe virus, a proposed new tenuivirus. *Archives of Virology* 152 (9):1757-1762.

2.4 Des « photos successives » ou le reportage d'une émergence en milieu insulaire

Les symptômes provoqués par le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV, genre *Begomovirus*, famille *Geminiviridae*) ont été décrits pour la première fois dans les années 60s au Moyen Orient (Fig. 4A). Tout d'abord sporadique, le virus est devenu un problème économique majeur sur les cultures de tomate à partir des années 70s. Dans les années 90s ce virus a été disséminé en dehors de son aire d'origine et a émergé dans de nombreuses régions du monde telles que La Réunion en 1997 (Peterschmitt et al. 1999), le Maroc en 1998 (Peterschmitt, Granier, and Aboulama 1999), la France en 1999 (Dalmon et al. 2000), et bien d'autres régions en Amérique et en Asie. Les symptômes d'enroulement, de jaunisse et de rabougrissement, provoqués par le TYLCV sont suffisamment évidents pour qu'une personne, même non avertie, les remarque peu après leur apparition. On peut donc estimer que la date d'introduction d'un virus est généralement très proche du signalement des premiers symptômes. C'est ainsi que nous avons pu suivre l'émergence du TYLCV dans un milieu insulaire, donc isolé, et ceci peu après son introduction. Les premiers symptômes ont été découverts en septembre 1997 dans une ferme de la région de Saint Pierre, au sud de l'île (Fig. 4B) (Delatte, Lett et al. 2007; Delatte, Holota et al. 2007). En décembre 1997, le TYLCV est détecté dans 13 exploitations situées à proximité de ce premier cas détecté, mais aussi dans une petite zone à l'ouest, près de Saint Paul. La zone de culture de la tomate située sur la façade ouest de l'île a fini par être entièrement contaminée début 1999. Par contre, ce n'est qu'en 2003 que des cas de TYLCV ont été détectés en dehors de cette zone sur la côte est près de la ville de Sainte Rose. Pour suivre l'évolution des populations virales depuis le premier signalement en septembre 2007, 11 sites ont été échantillonnés au moins une fois par an de 1997 à 2004 avec un total de 111 échantillons analysés. En 1997 la diversité génétique moyenne était relativement faible, ce qui est cohérent avec un délai court entre l'introduction et le premier signalement du virus, et suggère une introduction unique. La diversité génétique

moyenne augmente ensuite de façon quasi linéaire pendant les 7 années qui suivent (Fig. 4C). Les données de séquences ne sont pas compatibles avec une population idéale de taille constante et évoluant de façon neutre. Les tests suggèrent que cette incompatibilité est due à une augmentation de la taille efficace de la population telle que l'indique son estimation par maximum de vraisemblance qui révèle une forte augmentation après 2001 (Fig. 4D). Une des mutations détectées présente une fréquence significativement plus forte que la fréquence des autres mutations ; 39 isolats portent cette mutation sur les 111 analysés (35%). Plusieurs observations suggèrent que cette mutation a été favorisée par sélection plutôt que par dérive : (i) la mutation est de plus en plus fréquente au fil des années, (ii) la deuxième mutation la plus fréquente n'est présente que sur 9% des échantillons, (iii) la mutation code pour un codon stop qui tronquent la protéine C4 de 4 acides aminés, une modification détectée chez d'autres begomovirus.

Ces travaux ont été réalisés par Hélène Delatte, une étudiante que j'ai co-encadrée en thèse. Les résultats ont été publiés dans un article scientifique et dans un chapitre d'ouvrage :

Delatte, H., H. Holota, B. Moury, B. Reynaud, J. M. Lett, and M. Peterschmitt. 2007. Evidence for a founder effect after introduction of Tomato yellow leaf curl virus-Mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution* 65 (1):112-118.

Delatte, H., J.M. Lett, P. Lefeuvre, B. Reynaud, and M. Peterschmitt. 2007. An insular environment before and after TYLCV introduction. In *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, molecular biology, breeding for resistance*, edited by H. Czosnek. Dordrecht, The Netherlands: Springer

2.5 Les vecteurs de virus, complices malgré eux des émergences virales

Pour mesurer l'importance des vecteurs dans les émergences virales, il suffit d'imaginer ce que seraient les maladies virales sans leur intervention :

- les virus infectant exclusivement des plantes annuelles et qui ne sont pas transmis par semences, seraient voués à une disparition très rapide
- les quelques virus pour lesquels une transmission par semence a été décrite réussiraient à se maintenir, mais certainement avec difficulté, car ce mode de transmission est généralement peu efficace
- les virus infectant des plantes à multiplication végétative seraient certainement les moins affectés. On peut cependant imaginer qu'en absence de vecteurs, les méthodes d'assainissement utilisées sur de telles plantes en culture viendraient facilement à bout de ces virus

De plus, l'absence de vecteurs présentant au cours de leur cycle une forme ailée, réduirait considérablement la dissémination à longue distance notamment pour les virus de cultures annuelles non transmis par semence.

La description d'un cycle de transmission d'un virus par son vecteur - acquisition sur une plante, transit à travers le vecteur et inoculation - servira d'illustration de l'adaptation qui a été nécessaire pour que le virus puisse s'arracher de l'impasse d'un hôte éphémère et ainsi assurer une descendance. Puis je présenterai une analyse de populations du vecteur *Bemisia tabaci* qui illustre une émergence virale qui a été vraisemblablement provoquée par un déplacement de vecteur à longue distance.

2.5.1 L'adaptation d'un virus à son vecteur

Le Maize streak virus (MSV), déjà évoqué ci-dessus, provoque des chloroses en forme de stries sur une large gamme d'espèces de poacées annuelles et tout particulièrement sur maïs (Fig. 1A et 1B). Ces stries sont parallèles aux nervures et correspondent à des îlots de cellules infectées par le virus dans lesquels les chloroplastes sont déprimés (Bigarré 1994). Le virus est détecté dans le noyau de ces cellules malades sous forme de réseau paracristallin (Fig. 5E). Le virus peut être détecté dans tous les types cellulaires mais n'est pas détecté en dehors de ces zones chlorotiques (Bigarré 1999). Pour ne pas disparaître avec son hôte qui se dessèche après production de semences, le MSV a besoin d'être transmis à une nouvelle plante hôte et ainsi de suite. Un des avantages sélectifs du MSV est de pouvoir compter sur plusieurs espèces d'insecte phytophage capable d'assurer ce relais entre deux plantes hôtes. Les espèces vectrices sont des cicadelles qui appartiennent toutes au genre *Cicadulina*, la plus commune étant *Cicadulina mbila*. L'étude du comportement alimentaire de *C. mbila* sur maïs à l'aide d'une technique d'électrophysiologie appelée l'électropénétrographie (EPG) a permis de déceler quelles étaient les phases du cycle alimentaire les plus favorables à l'acquisition du virus sur une plante infectée (Fig. 5A et 5B) (Lett et al. 2001). Cinq profils EPG ont pu être distingués lors des enregistrements par des analyses de fréquence, de voltage médian, de durée moyenne des séquences, et de temps moyen jusqu'au premier enregistrement de chaque profil. Les profils sont numérotés de 1 à 5 selon l'ordre chronologique dans lequel ils apparaissent généralement au cours d'une phase d'exploration et d'alimentation d'un tissu végétal. La caractérisation des profils EPG a été complétée en identifiant les tissus de plantes qui sont visités au moment de l'enregistrement des profils. Cette observation est largement facilitée par la production d'une gaine de salive visqueuse qui permet de suivre le parcours des stylets même quand les stylets ne sont pas visibles dans la préparation microscopique du fait de leur rétraction avant la stylectomie (Fig. 5C). Le profil 1 apparaît dès que l'insecte plonge ces stylets dans le tissu foliaire et commence à synthétiser sa gaine salivaire. Le parcours et les activités réalisés pendant cette phase alimentaire étant extracellulaire, elles n'interviennent vraisemblablement pas dans l'acquisition ou l'inoculation du virus. Contrairement au profil 1, le profil 2 est caractérisé par un signal périodique régulier d'une fréquence de 5-7Hz. L'amplitude de ce profil et sa régularité suggèrent qu'il est généré par une force électromotrice et plus particulièrement par celle de la pompe cibariale. Ceci est cohérent avec l'état partiellement vidé des cellules visitées au moment de l'enregistrement de ce signal (Fig. 5D). Si cette phase de gobage est suffisamment puissante pour éclater des chloroplastes, on peut supposer que la membrane nucléaire pourrait être rompue également en libérant les virions dans le cas de cellules infectées (Fig. 5E). De ce fait, la phase d'alimentation de la cicadelle correspondant au profil 2 pourrait permettre aux virions d'être massivement ingérés par le vecteur comme en témoigne la quantité de virus détectée dans une cicadelle alimentée pendant 24 heures, 0.5ng de virions (calculés à partir du dosage de la protéine de capsid) ou 10^6 copies d'ADN viral (Fig. 6A) (Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992). Cette charge virale est non seulement ingérée mais également stockée car il reste environ 0.2ng de virions et plus que 10^4 copies d'ADN viral 4 semaines après une période d'acquisition de 2 à 3 jours (Fig. 6B). C'est ce qui explique qu'une alimentation de seulement 3 heures sur une plante infectée par le MSV permet à une cicadelle de pouvoir transmettre le MSV à une plante test jusqu'à 35 jours après acquisition (Reynaud and Peterschmitt 1992). Cette persistance efficace pourrait également s'expliquer par une multiplication du virus dans son vecteur, mais aucun résultat ne permet de conforter cette hypothèse (Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992). Utiliser le vecteur en se faisant acquérir efficacement et en limitant son élimination peut s'avérer plus efficace que de s'y faire multiplier. Quand le virus ne se multiplie pas dans le vecteur, il inflige probablement

moins d'effet négatif sur la valeur sélective du vecteur ; aucun effet négatif du MSV sur le vecteur n'a été décrit. De plus, se multiplier dans des hôtes aussi différents qu'une plante et un arthropode induit inévitablement des contraintes supplémentaires sur le génome. Lors d'une alimentation continue sur une plante de maïs infectée par le MSV, l'accumulation virale suit une progression linéaire qui peut atteindre 5×10^6 copies d'ADN viral par individu en 13 jours (Fig. 6A), et environ 4ng de virions en 35 jours; aucune saturation n'a pu être détectée. Par contre quand la même expérience est réalisée avec une cicadelle non vectrice du MSV, *Cicadulina chinai*, la quantité d'ADN viral plafonne en dessous de 10^6 copies et disparaît en quinze jours quand elle est privée de la source virale. Ces résultats reflètent une interaction spécifique entre le MSV et son vecteur que nous avons analysée au niveau microscopique. Les observations microscopiques se sont focalisées sur le tube digestif car d'après le dosage de l'ADN viral dans les différents compartiments du vecteur traversés par le virus, tube digestif, hémocœle, et tête (glandes salivaires) (Lett et al. 2002), c'est dans cette organe que l'accumulation virale est la plus forte (Fig. 6C).

Nous avons détecté la protéine de capsid du MSV dans le tube digestif de *C. mbila* par immunofluorescence (Fig. 7A) (Ammar et al. 2009) et confirmé des résultats antérieurs montrant sa localisation dans la chambre filtrante (Markham et al. 1988). Des structures paracrystallines entourées ou non d'une membrane y ont été détectées (Fig. 7C et 7D) (Ammar et al. 2009). Ces structures commencent à se former dès le 3^e jour après le début d'une période d'acquisition et se maintiennent même si la cicadelle n'est plus exposée au virus pendant une période de 7 jours. Les virions semblent captés par la voie des endosomes mais résisteraient à leur arsenal de dégradation ce qui obligerait les cellules à les maintenir en isolement dans des lysosomes. Aucune des ces structures paracrystallines n'a été observées chez la cicadelle non vectrice, *C. chinai*, ce qui peut s'expliquer par une non pénétration du virus dans les cellules épithéliales et/ou par une incapacité du virus à résister à la voie de dégradation des endosomes. Etant donné que le virus peut être transmis dès le 1^{er} jour après le début d'une période d'acquisition mais que les structures paracrystallines ne commencent à se former qu'au 3^e jour, ces structures ne semblent pas indispensables à la transcytose du virus à travers les épithéliums intestinaux. Par contre elles pourraient participer au maintien de l'infectivité notamment quand la cicadelle est privée de source virale. Les vésicules à clathrine observées lors de la transmission circulante de virus de la famille Luteoviridae par puceron, n'ont pas été observées pour la transmission circulante du MSV. Nous avons proposé un mécanisme d'endocytose indépendant des vésicules à clathrine, comparable à celui qui a été décrit pour un virus icosaoédrique animal de 50 nm de diamètre, le SV40. Il s'agit d'une endocytose dépendant de radeaux (rafts) lipidiques qui consiste à entourer les particules virales dans des vésicules membranaires très serrées. De tels vésicules dans le cas de virions aussi petits que ceux du MSV qui est constitué de particules quasi icosaoédriques de 20nm de diamètre, passeraient probablement inaperçues. Cette hypothèse reste à étayer par des résultats expérimentaux.

Contrairement à certains virus de plantes, le MSV ne semble pas se multiplier dans son hôte (Lett et al. 2002) et n'est pas transmis par les oeufs (Storey 1928). Comme dans son hôte végétal à cycle annuel, la survie du virus dans le vecteur dépend de sa capacité à le quitter avant que l'insecte ne meurt. La phase de l'alimentation de la cicadelle qui semble être la plus favorable à libération du virus dans la plante est celle qui correspond au profil EPG numéro 4 (Fig. 5B) (Lett et al. 2001). Le spectre des fréquences montre un pic majeur à 0,4Hz. Cette fréquence est similaire à celle qui a été enregistrée pour le profil EPG E1 chez les pucerons et qui a été associé à l'activité de la pompe salivaire dans les tubes criblés. Les observations en microscopie indiquent effectivement que l'extrémité des stylets était localisée dans les tubes criblés au moment de l'enregistrement du profil 4 et qu'il y a eu production de salive. Des travaux par d'autres auteurs montrent que l'inoculation du MSV est effectivement associée à

ce signal (Kimmins and Bosque-Perez 1996). Le dosage du virus au cours du temps dans les différents compartiments de la cicadelle jusqu'à 26 jours après une période d'acquisition de 3 jours, indique que le nombre de copies d'ADN viral dans la tête se maintient aux alentours de 1.5×10^4 copies d'ADN viral alors que dans les autres compartiments, le niveau baisse progressivement (Fig. 6C). Ces profils de concentration virale au cours du temps suggèrent un flux continu de virus du tube digestif et de l'hémocœle vers les glandes salivaires et est cohérent avec la persistance du pouvoir infectieux des cicadelles.

Ces travaux ont été principalement réalisés par Jean Michel Lett, un étudiant que j'ai co-encadré en thèse. Les résultats ont été publiés dans les articles suivants:

Ammar, E. D., D. Gargani, **J. M. Lett**, and **M. Peterschmitt**. 2009. Large accumulations of maize streak virus in the filter chamber and midgut cells of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology* 154 (2):255-262.

Lett, J.M., M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Molinaro, F. Chiroleu, **M. Peterschmitt**, and B. Reynaud. 2001. Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101 (2):93-109.

Lett, J.M., M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud, and **M. Peterschmitt**. 2002. Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* 92 (1):65-74.

2.5.2 Emergence virale provoquée par le déplacement à longue distance du vecteur

Nous avons vu précédemment que l'émergence du MSV sur maïs a été provoquée par l'introduction d'un hôte exotique dans une région contaminée par un virus. Dans le cas des géminivirus qui font intervenir des insectes vecteurs pour leur transmission, l'émergence d'un nouveau virus peut également provenir du déplacement d'un vecteur virulifère. Cette possibilité est d'autant plus à craindre pour les géminivirus que leur transmission se fait selon le mode circulant persistant. Nous avons par exemple montré dans le cas du MSV, qu'une période d'acquisition de quelques heures suffisaient à rendre infectieuse une cicadelle et ceci pour plusieurs semaines (Reynaud and Peterschmitt 1992). Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres auteurs dans le cas des bégomovirus, qui montrent par exemple que le TYLCV peut être transmis 31 jours après une période d'acquisition de 48 heures (Czosnek et al. 2001). Les vecteurs de géminivirus peuvent donc facilement rester infectieux lors de leur déplacement à longue distance. C'est ce qui pourrait expliquer l'émergence du TYLCV à La Réunion selon nos résultats présentés ci-dessous.

Rappelons que le TYLCV a émergé en septembre 1997 à La Réunion (Peterschmitt et al. 1999). A la même période, des populations de *B. tabaci* ont fait leur apparition sur la plupart des plantes maraîchères, ornementales, et adventices dans toutes les zones de production de tomate de l'île (Delatte, Reynaud et al. 2005). Des rapports datant de 1938 et 1953 avaient certes signalés la présence de *B. tabaci*, mais depuis, aucune détection récente n'en a été faite jusqu'à l'apparition du TYLCV en 1997. Cette apparition soudaine de populations de *B. tabaci* était-elle le résultat d'une explosion de populations indigènes sous l'influence de certaines modifications de l'agroécosystème réunionnais ou la conséquence d'une introduction accidentelle d'une population étrangère ? L'identification des populations à

l'aide de marqueurs RAPD (Fig. 8A) révèle la présence de deux groupes génétiques distincts (Delatte, Reynaud et al. 2005; Delatte et al. 2006). Sur la base de la séquence du gène mitochondrial de la cytochrome oxydase 1, l'un des groupes a été associé au biotype B alors que les individus de l'autre groupe ne se classaient dans aucun des biotypes existants (Fig. 8B). Des individus récoltés sur d'autres îles du sud ouest de l'Océan Indien (Madagascar, Maurice, Seychelles, Mayotte) se classaient également dans ce nouveau groupe qui a été appelé biotype Ms selon le nom de l'archipel des Mascareignes. La découverte d'un biotype indigène était cohérente avec les descriptions anciennes de *B. tabaci*. La détection d'un biotype connu pour son caractère invasif et sa polyphagie était quant à elle compatible avec la nouvelle distribution des populations de *B. tabaci* sur l'île qui a coïncidé avec l'émergence du TYLCV. Le TYLCV est un virus de quarantaine contrôlé par les services de la Protection des Végétaux. L'introduction du TYLCV par des plants contaminés de tomate paraît donc peu probable. Par contre l'introduction du TYLCV par son vecteur est fort possible au regard de la petite taille de *B. tabaci* qui rend difficile sa détection visuelle, et de sa large gamme d'hôte qui comprend notamment des plantes ornementales dont on fait souvent le commerce. L'introduction d'une nouvelle population de vecteur sur l'île serait donc doublement responsable de l'émergence du TYLCV, d'une part pour avoir transporté le TYLCV sur l'île, et d'autre part pour avoir largement contribué à sa dissémination. Si le TYLCV avait été introduit par une plante infectée mais sans individus de *B. tabaci*, il est fort probable que le virus se serait disséminé moins vite. En effet le biotype indigène est principalement détecté sur des espèces non maraîchères.

La rencontre de ces deux populations divergentes par isolement géographique, B et Ms, nous a donné l'occasion d'étudier la nature de leurs interactions précoces (Delatte et al. 2006). Pour cela, 567 individus ont été récoltés sur toute l'île entre 2001 et 2002. Chaque individu a été assigné au biotype B ou Ms par une méthode Bayésienne de regroupement basée sur la fréquence allélique à chacun des 8 loci analysés (logiciel Structure). En 2001, le biotype B s'était largement propagé sur l'ensemble des zones de production de culture maraîchère qui se situent sur toute la périphérie de l'île à l'exception de la côte est. Le biotype B a également été détecté sur la côte est, mais le biotype Ms y est largement prédominant (Fig. 9B). Les biotypes sont en sympatrie sur presque tous les sites prospectés et souvent présents sur les mêmes plantes. Le déséquilibre de la distribution géographique entre les deux biotypes peut s'expliquer par une préférence du biotype B pour les cultures maraîchères, surtout présentes sur la côte ouest, et par une préférence du biotype Ms pour les plantes adventices. La faible fréquence du biotype B sur la partie très humide de l'île correspondant à la côte est, pourrait également provenir d'une préférence climatique du biotype B pour un climat plus sec. Grâce à une représentation graphique des deux axes principaux de différenciation génétique d'une analyse factorielle des correspondances, on confirme non seulement la distinction des individus inférés par Structure aux biotypes B et Ms, mais on remarque que les individus inférés à B forment deux nuages, le groupe B'' proche du nuage Ms et le groupe B' qui en est plus éloigné. Cette différenciation est également détectée par le logiciel Structure quand l'analyse est effectuée avec l'option « admixture » qui autorise une certaine part d'ancestralité hétérogène (Fig. 9A). Plus de 2/3 des individus B (groupe B'') présente une ancestralité hétérogène avec une probabilité d'appartenance de 50% à chacun des biotypes B et Ms respectivement. Les autres individus B (groupe B') présentent une probabilité d'appartenance à B proche de 100%. Les allèles caractéristiques de Ms, c'est-à-dire plus fréquents chez Ms que chez B, sont plus fréquents chez B'' que chez B' mais uniquement pour deux des 8 loci analysés ; pour les 6 autres la fréquence des « allèles Ms » est similaire entre les groupes B' et B''. Enfin, les individus B qui ont été récoltés sur des plantes qui hébergeaient également des individus Ms, appartiennent plus fréquemment au groupe B'' (29 B', 123 B''). Inversement,

les individus B récolté sur des plantes où aucun individu Ms n'a été récolté appartiennent plus souvent au groupe B' (61 B', 48 B''). L'appartenance au biotype B des individus appartenant au groupe B'' a été confirmée sur la base de séquences CO1 obtenues sur un échantillon de 10 individus B''. Ces résultats mettent en évidence un flux de gène de Ms vers B qui a engendré une population d'individus introgressés B'' qui sont dominants par rapport aux individus non introgressés B' dans la plupart des sites prospectés. Les croisements ne se feraient que dans un seul sens, femelle B avec mâle Ms. La présence du symbiote secondaire *Rickettsia* détecté dans un échantillon d'individus du biotype B et sa quasi absence chez Ms expliquerait cette asymétrie par un phénomène d'incompatibilité cytoplasmique (Guegen, communication personnelle). En effet, à l'instar de *Wolbachia*, *Rickettsia* est connu pour sa capacité à manipuler la reproduction. Ainsi les embryons issus d'un croisement entre un mâle B porteur de *Rickettsia* et une femelle Ms ne le portant pas, subiraient une mort précoce. Pour le moment on ne connaît pas l'impact de l'émergence de cette population hybride sur la transmission du TYLCV.

Ces travaux ont été réalisés par Hélène Delatte, une étudiante que j'ai co-encadrée en thèse. Les résultats ont été publiés dans des articles scientifiques et un chapitre d'ouvrage:

Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J. M. Lett, R. Goldbach, and M. Peterschmitt. 2005. A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95 (1):29-35.

Delatte, H., P. David, M. Granier, J. M. Lett, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud. 2006. Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetical Research* 87 (2):109-124.

Delatte, H., J.M. Lett, P. Lefevre, B. Reynaud, and M. Peterschmitt. 2007. An insular environment before and after TYLCV introduction. In *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, molecular biology, breeding for resistance*, edited by H. Czosnek. Dordrecht, The Netherlands: Springer

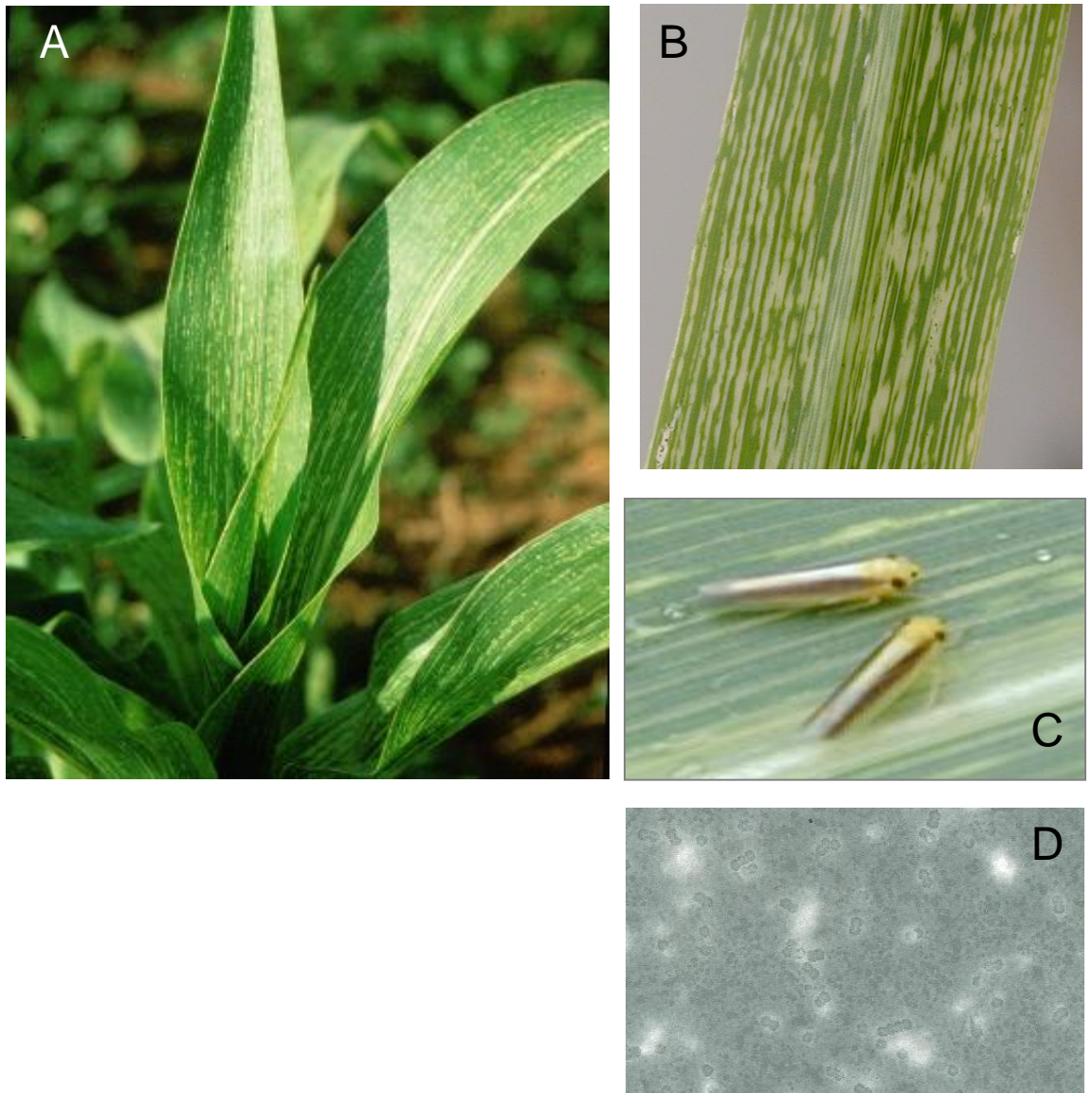


Figure 1: Présentation du Maize streak virus (MSV), un géminivirus strictement africain. (A) Une plante de maïs infectée par le MSV. (B) Détail des symptômes. L'introduction du maïs en Afrique a révélé, par des symptômes très prononcés de chlorose provoqués par le MSV, un groupe de géminivirus africains infectant des poacées sauvages. (C) *Cicadulina mbila*, une des espèces vectrices des géminivirus africains de poacées. (D) Extrait purifié de virions de MSV. On observe non seulement des particules en doublet, typique des géminivirus, mais également des particules icosaédriques non géminées, et des associations multiples jusqu'à 4 particules icosaédriques.

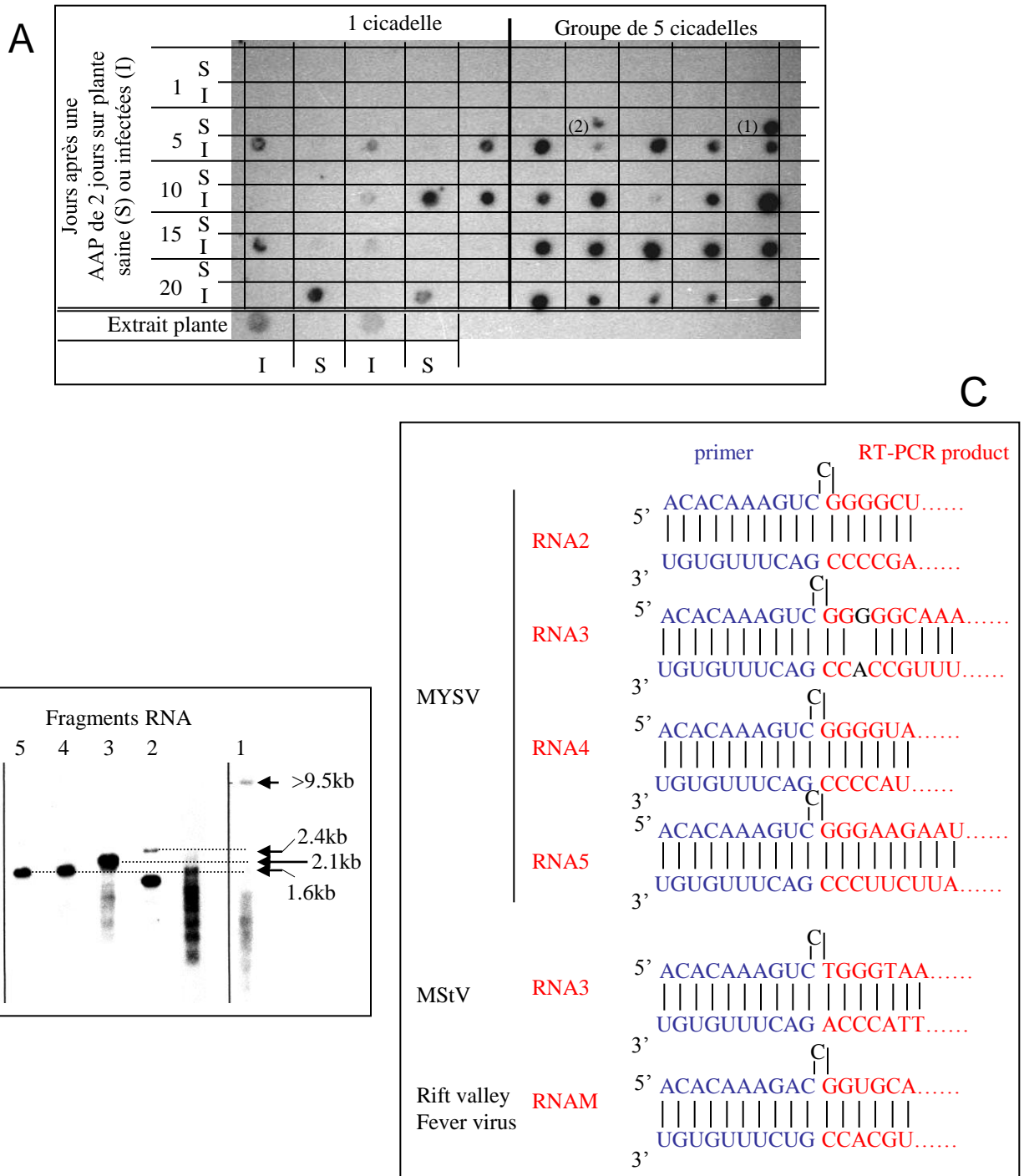
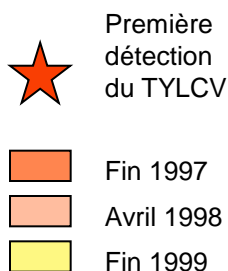


Figure 3: Caractérisation d'un nouveau virus du maïs en Egypte, le Maize yellow stripe virus (MYSV) (A) Hybridation d'extrait de cicadelles vectrice (*Cicadulina chinai*) par dot blot à l'aide d'une sonde complémentaire du génome du MYSV. Le MYSV n'est détecté dans aucune cicadelle au jour 1 après la période d'alimentation sur plante infectée. Le MYSV n'est détectable qu'à partir du 5e jour, quand le MYSV se serait répliqué dans le vecteur. L'échantillon placé dans le carré noté (1) est un répétition de l'échantillon placé en dessous. L'hybridation observée dans le carré (2) est probablement due à une contamination.

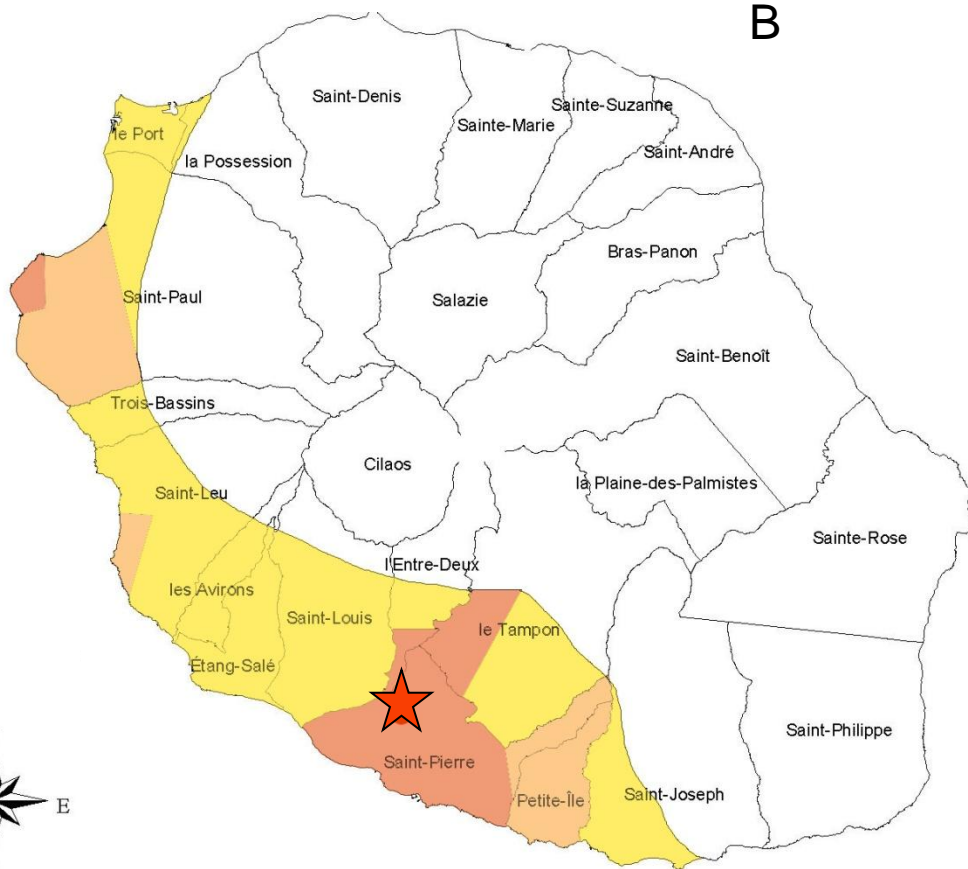
(B) Northern blot sur de l'ARN viral extrait de virions. Les sondes marquées au ^{32}P ont été préparées avec des produits d'amplification obtenus avec des amorces complémentaires des extrémités des fragment génomiques qui son conservées au sein du genre tenuivirus. Cinq fragments d'ARNs du MYSV sont distingués. (C) Les extrémités de 4 de ces fragments sont complémentaires, une caractéristique commune aux tenuivirus et aux phlébovirus (Bunyaviridae).



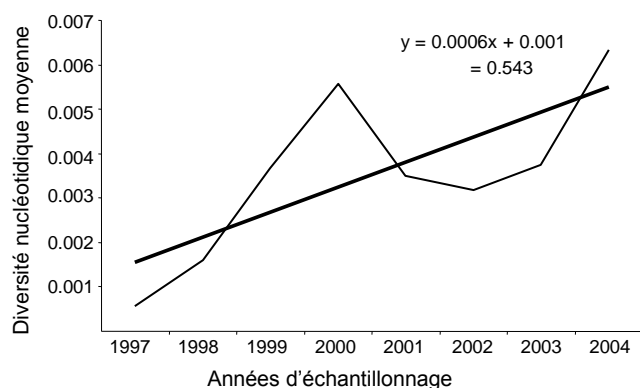
A



B



C



D

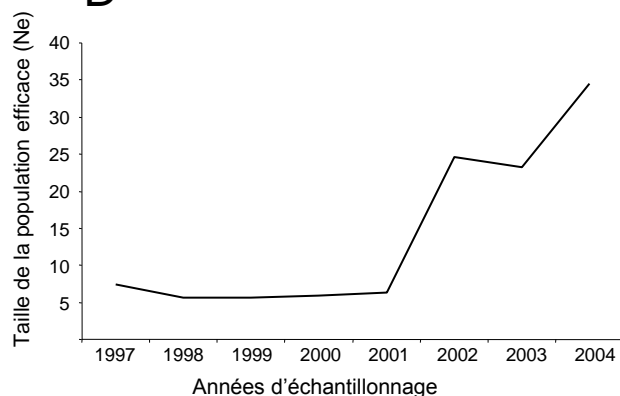


Figure 4: Progression et évolution du Tomato yellow leaf curl virus à La Réunion après son introduction accidentelle fin 1997. (A) Symptômes typiques des feuilles jaunes en cuillère provoqués par le TYLCV. (B) Carte de La Réunion montrant la ferme dans laquelle les premiers symptômes de TYLCV ont été découverts et sa progression sur l'ensemble de la zone de culture de la tomate entre 1997 et 1999. (C) Diversité moyenne du TYLCV au cours des années d'échantillonnage. (D) Estimation de la population efficace sur la base de séquence de 864 paires de base représentant 31% du génome. L'estimation a été obtenue par maximum de vraisemblance à l'aide du programme Fluctuate (logiciel LAMARC version 2.0.2) en utilisant un taux de mutation de 10^{-3} .

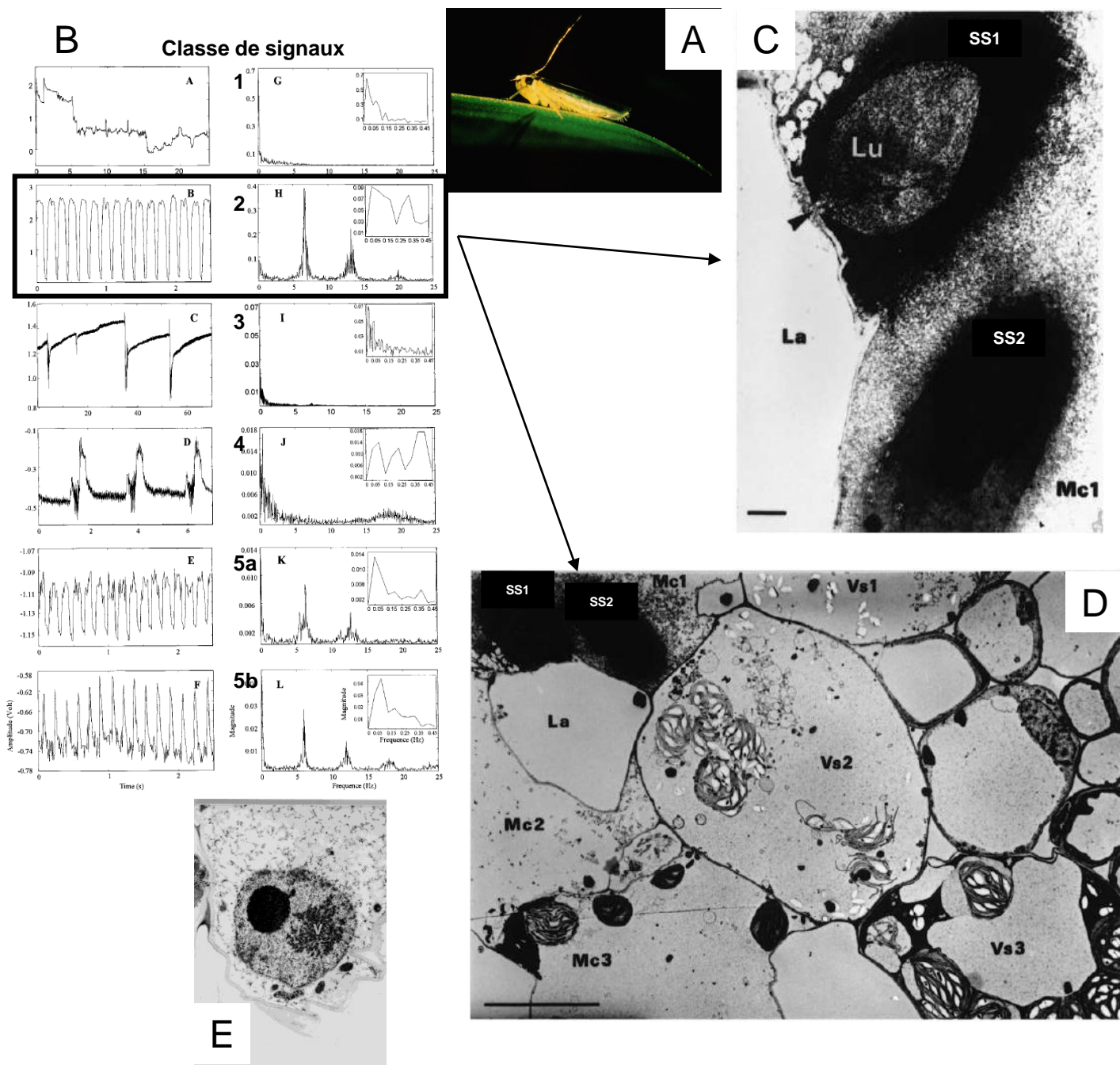


Figure 5: Analyse du comportement alimentaire de la cicadelle vectrice du Maize streak virus, *Cicadulina mbila*, par électropénétrographie (EPG) et par microscopie électronique. (A) *Cicadulina mbila* branché avec un fil d'or pour l'enregistrement EPG. (B) Tracé temporel (A-F) et analyse spectrale (G-L) des 6 classes de signaux distingués en EPG. (C) Visualisation de 2 gaines salivaires (SS1, SS2) d'une cicadelle dont l'activité alimentaire a été interrompue lors de l'enregistrement d'un signal EPG de classe 2 (signal régulier et ample d'une fréquence de 5Hz). Les gaines salivaires sont observées dans une cellule du mésophile. La pointe de flèche indique une perforation de la paroi et de la membrane cytoplasmique à l'endroit où elle est en contact avec la gaine SS1. On remarque une lumière dans SS1 qui résulte du vide laissé après le retrait des stylets. (D) Cellule de la gaine périvasculaire (VS2) ponctionnée au travers de la gaine salivaire SS2 situé dans une cellule adjacente du mésophile. Le déchirement des chloroplastes et la dispersion des grains d'amidon témoignent d'une aspiration violente de la pompe cibariale. Le signal de classe 2 est vraisemblablement provoqué par la force électromotrice de la pompe cibariale. (E) Quand des inclusions virales nucléaires sont présentes dans des cellules ponctionnées (V), le déchirement de la membrane nucléaire permettrait au virus d'être acquis au cours de cette phase alimentaire.

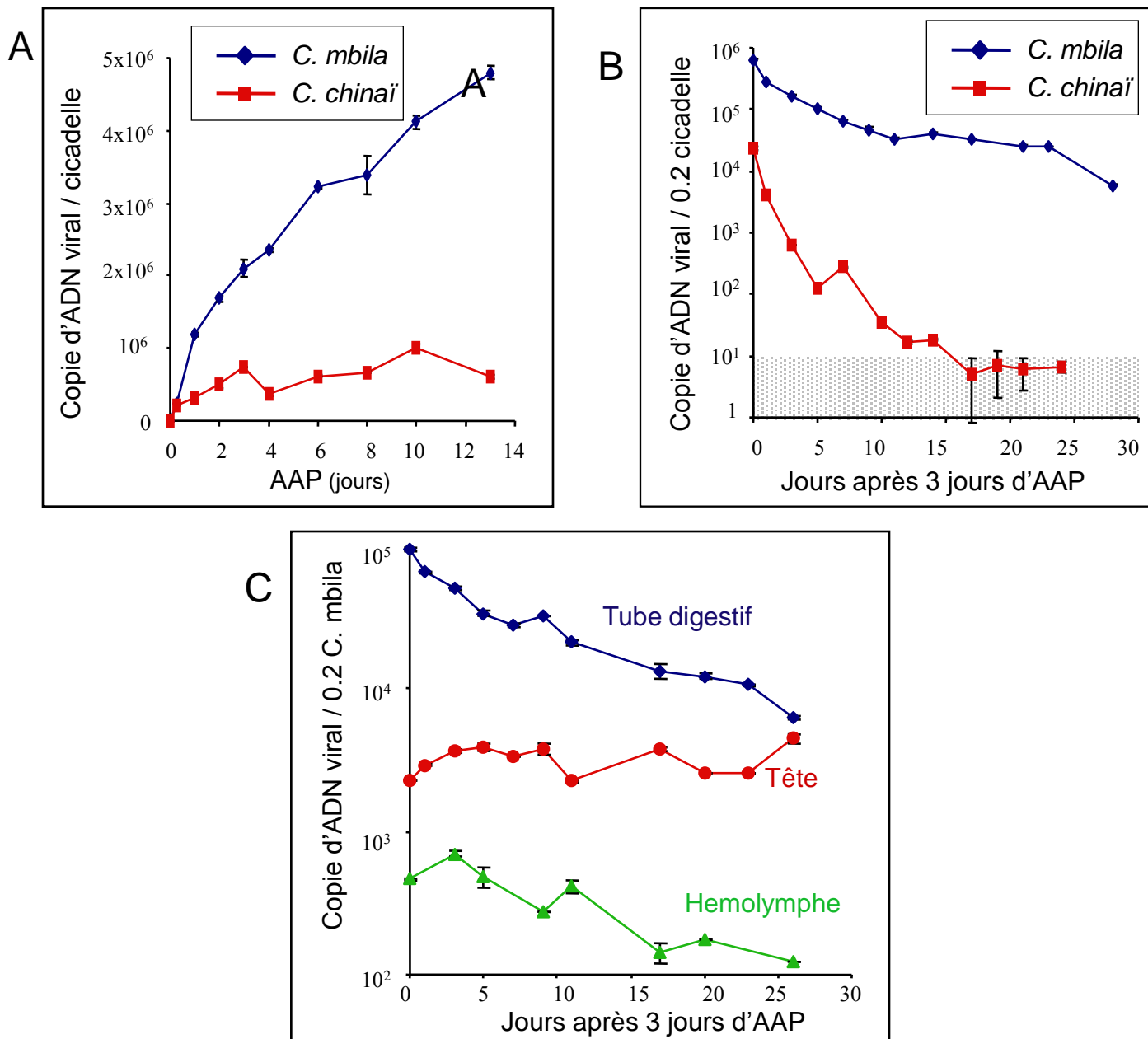


Figure 6: Accumulation, persistance et répartition du Maize streak virus (MSV) dans son vecteur, *Cicadulina mbila*. La concentration du MSV a été déterminée par dosage de l'ADN viral à l'aide d'une PCR quantitative de type SYBR Green. (A) L'accumulation de l'ADN viral a été déterminée au cours d'une période d'alimentation d'acquisition (AAP) des cicadelles maintenues sur des plantes de maïs infectées par le MSV. La spécificité de l'interaction MSV-vecteur a été mise en évidence en comparant l'accumulation d'ADN viral dans *C. mbila* et dans une espèce non vectrice du même genre, *C. chinaii*. (B) La persistance du MSV dans son vecteur a été déterminée en dosant l'ADN viral sur des cicadelles maintenues sur des plantes non hôtes du MSV (mil, *Pennisetum typhoides*), après une AAP de 3 jours sur des maïs infectés par le MSV. (C) Persistance du MSV dans les compartiments généralement impliqués dans la transmission circulante des virus par leur vecteur, le tube digestif, l'hémolymph, et la tête. Le protocole est le même qu'en (B) sauf que les cicadelles sont disséquées avant dosage et que seule l'espèce vectrice, *C. mbila* a été testée.

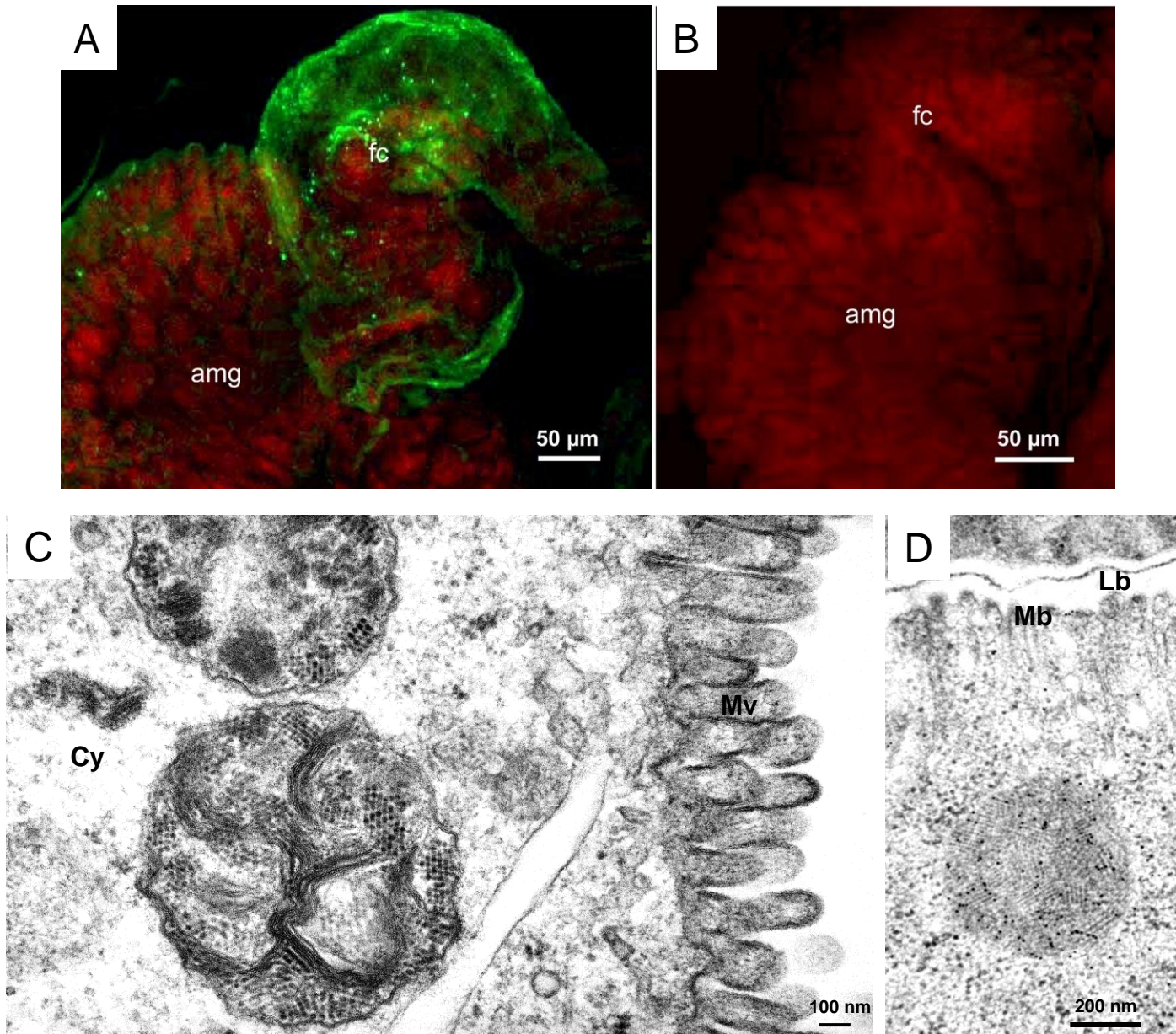


Figure 7: Détection du Maize streak virus (MSV) dans le tube digestif de son vecteur *Cicadulina mbila* par microscopie optique et électronique. (A) Détection du MSV par immunofluorescence sur une cicadelle alimentée pendant 7 jours sur une plante de maïs infectée par le MSV et suivi par une période de 7 jours sur une plante de maïs saine. La fluorescence est principalement détectée sur la chambre filtrante (fc). (B) Contrôle négatif sur une cicadelle qui n'a pas été exposée au virus. (C) Coupe fine dans le tube digestif d'un individu de *C. mbila* après une période d'alimentation de 14 jours sur une plante de maïs infectée par le MSV. Le tube digestif a été fixé dans de l'osmium et inclus dans une résine epon. On observe deux vésicules contenant des réseaux de particules sphériques de taille équivalente à celle des virions de MSV. (D) Ces réseaux sont spécifiquement détectés par immuno-marquage à l'aide d'anticorps préparés contre le MSV. Abréviations: intestin moyen antérieur (amg), cytoplasme (Cy), microvillosité (Mv), membrane basale (Mb), lamelle basale (Lb).

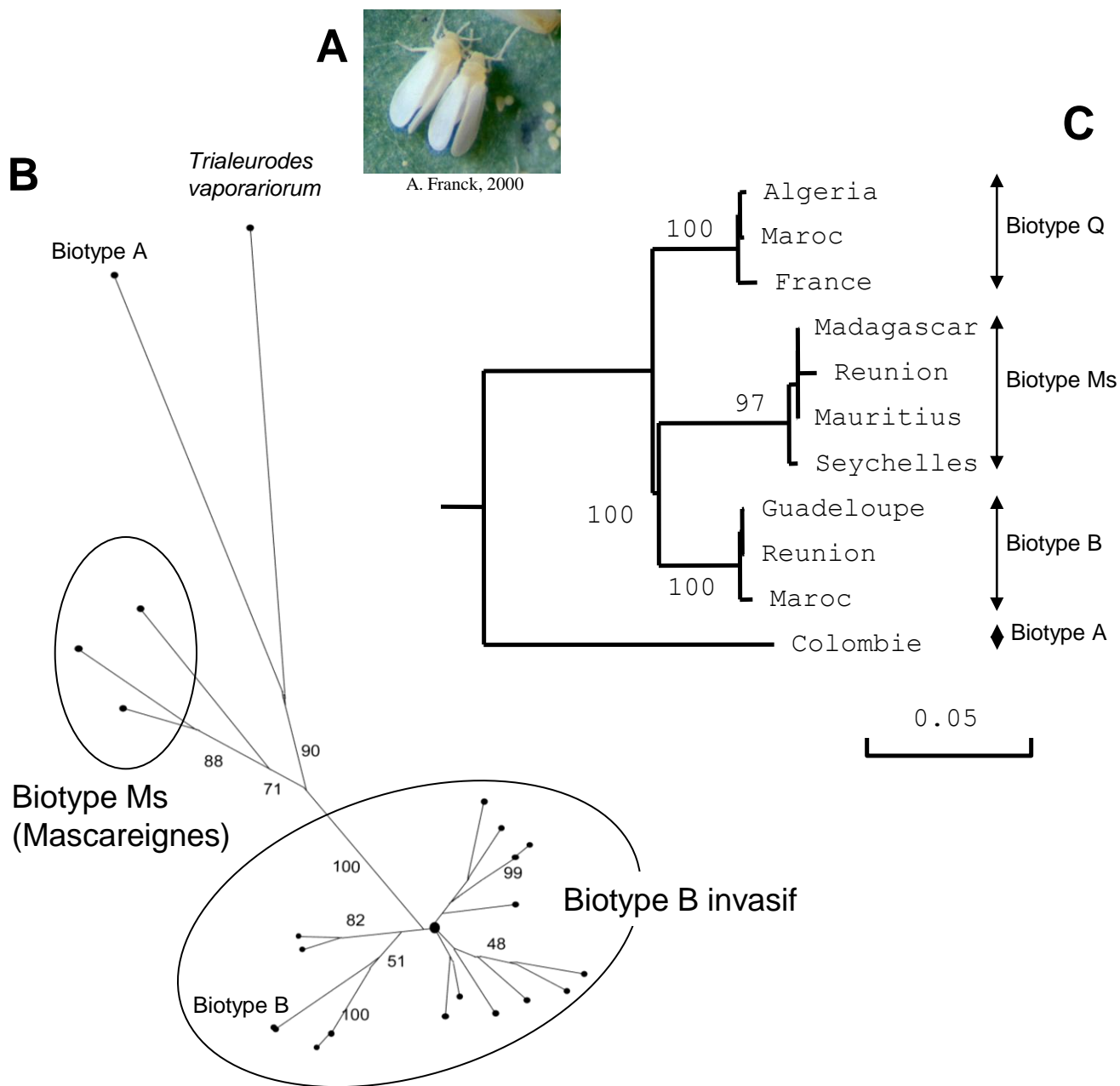


Figure 8: A l'aide de marqueurs RAPD et de séquences du gène mitochondrial codant pour la cytochrome oxydase 1 (CO1), deux groupes génétiques de *Bemisia tabaci* ont été identifiés à La Réunion, un groupe indigène appartenant au biotype Ms, et un groupe invasif appartenant au biotype B. (A) *B. tabaci* adultes. Les biotypes B et Ms ne sont pas distinguables sur le plan morphologique. (B) Arbre de type Neighbour-joining basé sur les valeurs de similarité de Sokal & Michener déduite de 67 fragments RAPD polymorphes amplifiés sur de l'ADN extrait d'aleurodes de La Réunion. Des ADN d'individus contrôle de *B. tabaci* du biotype A (Colombie) et du biotype B (France) ont été analysés en parallèle. (C) Arbre de type Neighbour-joining montrant les distances génétiques des fragments de 816 nucléotides du gène CO1 de *B. tabaci*. Les individus comparés provenaient de la Réunion et d'îles du Sud Ouest de l'Indien dans lesquels le biotype indigène Ms a également été détecté. Quelques individus d'ailleurs, appartenant aux deux biotypes invasifs B et Q, ont été rajoutés à la comparaison. Un individu du Nouveau Monde, appartenant au biotype A, a été rajouté pour enraciner l'arbre.

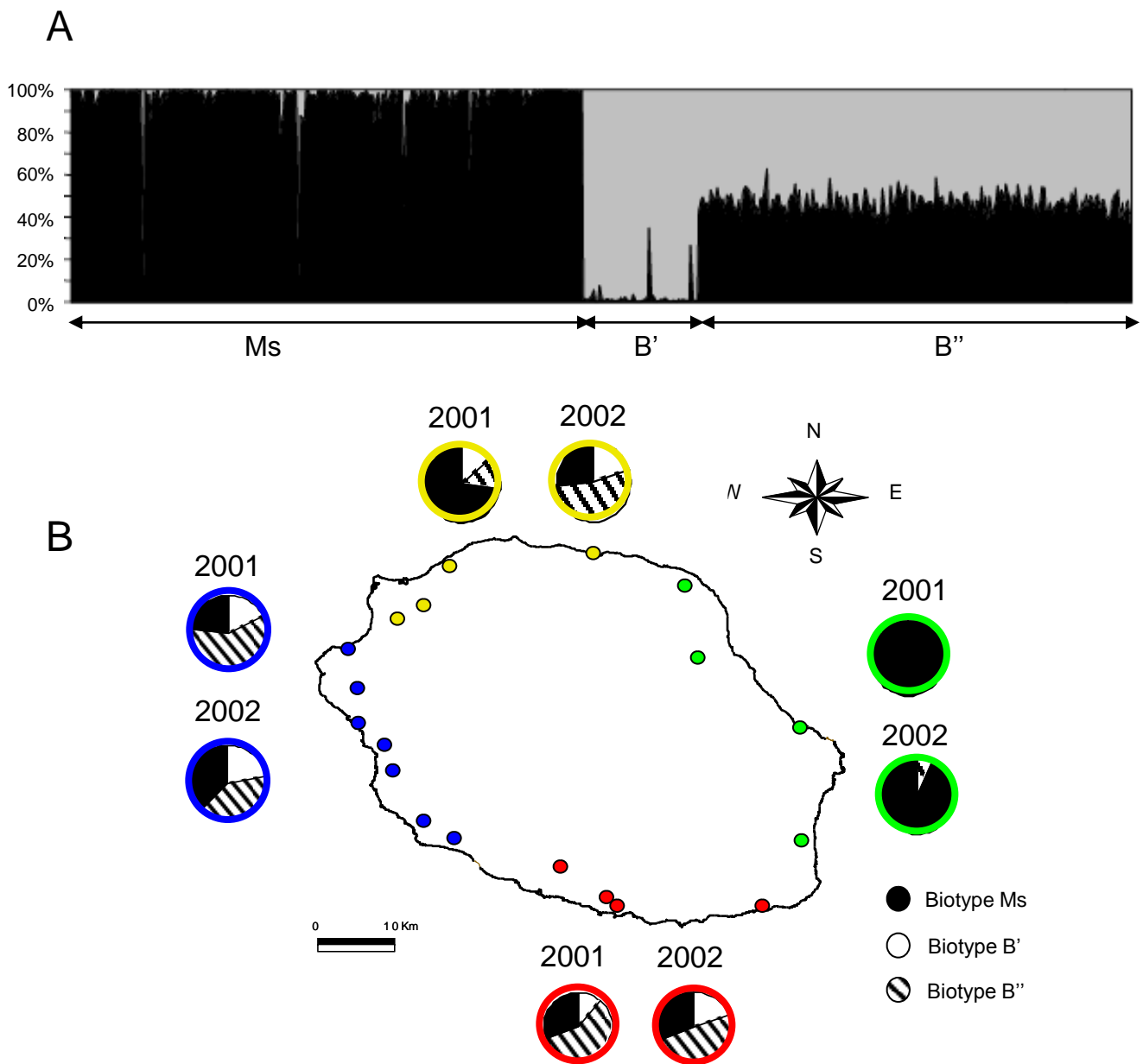


Figure 9: Structuration génétique et géographique des populations de *Bemisia tabaci* de La Réunion. Un total de 567 individus a été récoltés dans différents sites de l'île entre 2001 et 2002. Chaque individu a été caractérisé à l'aide de 8 marqueurs microsatellites. Les deux groupes génétiques précédemment identifiés par RAPD et CO1 (Fig. 8) ont été retrouvés à l'aide des marqueurs microsatellites par une analyse bayésienne individu centrée qui définit des groupes sur la base de fréquences alléliques (logiciel Structure de Pritchard et al. 2000, Genetics 155, 945). A l'aide d'une analyse de vraisemblance, le nombre optimum de groupe était de 2. En (A) chacun des 567 individus analysés est représenté par une barre verticale qui représente sa probabilité d'appartenance à chacun des deux groupes génétiques ancestraux, B (gris) et Ms (noir). En utilisant l'option «admixture» de Structure, qui permet une ancestralité hétérogène, certains individus présentent un profil hybride. Ces individus, regroupés au sein d'un groupe appelé B'' (par opposition au B « pur » appelé B') présentent une hérédité maternelle provenant de B d'après la séquence du gène mitochondrial CO1. (B) Structuration géographique des groupes génétiques identifiés à l'aide des marqueurs microsatellites. On remarque une domination du biotype indigène Ms à l'ouest de l'île.

**CHAPITRE 3 :
ACTIVITES EN COURS
ET PROJET SCIENTIFIQUE**

*Mutation et recombinaison,
les moteurs de l'émergence*

3 Activité en cours et projet scientifiques

Mutation et recombinaison, les moteurs de l'émergence

Dans ce chapitre, je m'intéresse plus particulièrement au risque d'émergence de souches virales aux propriétés nouvelles au sein d'une espèce connue selon le cas d'émergence (e) décrit dans le préambule (chapitre 2). La probabilité pour qu'émerge un variant présentant une virulence accrue dépend d'une part de la capacité du virus à produire de la variabilité génétique, et d'autre part du phénotype des variants produits. Ainsi, le risque d'émergence sera analysé selon deux axes complémentaires, avec d'une part l'estimation de la fréquence de mutation et de recombinaison chez les begomovirus, et d'autre part de déterminer l'impact de ces modifications de séquences sur le phénotype. En ce qui concerne le phénotype, il ne suffit pas d'être plus virulent pour être à l'origine d'une émergence virale, encore faut-il présenter une valeur sélective suffisante pour s'imposer sur la population parentale. Aussi, pour que la détermination phénotypique soit pertinente par rapport au risque d'émergence, le phénotype des variants sera déterminé autant que possible pour la virulence et la valeur sélective.

3.1 Contexte scientifique et résultats

3.1.1 Mutation

A la base, la variabilité est créée par des mutations qui sont généralement le résultat d'une copie non fidèle des génomes au cours de la réplication. La variabilité créée par mutation semble constituer un avantage sélectif au sein d'un environnement variable (Vignuzzi et al. 2006), mais peut à l'inverse constituer un désavantage si le taux de mutation dépasse un seuil critique qui rend difficile le maintien d'une information fonctionnelle, ce qui peut provoquer la disparition de l'organisme, surtout quand la taille efficace de la population est faible (Anderson, Daifuku, and Loeb 2004; Sierra et al. 2000). En effet il a été montré dans le cas d'un virus de mammifère (Vesicular stomatis virus, VSV) que la majorité des mutations aléatoires ont un effet délétère ou létal (Sanjuan, Moya, and Elena 2004). Le taux de mutation optimal semble donc déterminé par un compromis (Johnson and Barton 2002; Orr 2000) qui est vraisemblablement la cible de la sélection naturelle (Drake et al. 1998). Ce compromis est en plus conditionné par un autre compromis qui implique la vitesse de réplication. Des résultats montrent en effet que l'augmentation de la vitesse de réplication se fait au détriment de la fidélité de la polymérase (Furio, Moya, and Sanjuan 2005) ce qui met en tension fidélité de réplication et la vitesse d'accumulation qui est une composant de la valeur sélective. De tous les organismes vivants, les virus à ARN présentent les taux de mutation le plus élevé. Des valeurs situées entre 10^{-4} et 10^{-5} mutation par re-copie de nucléotide ont été estimées (Drake and Holland 1999). Le seul taux de mutation déterminé pour un virus de plante, l'a été pour le virus à ARN, Tobacco mosaic virus (TMV) (Malpica et al. 2002). Pour s'affranchir de la sélection, la mesure a été faite sur un gène de mouvement dont la fonction est complétée par l'expression transgénique de ce gène dans la plante infectée. La dérive a été minimisée en ne considérant que la population virale produite dans la feuille inoculée. Le nombre de cycle d'infection a été calculé à partir de plusieurs estimations, le nombre de cellules infectées à l'inoculation, le nombre de cellules infecté au moment du prélèvement, et la disposition des cellule pour estimer le nombre de passage de cellule à cellule entre l'inoculation et la récolte de la feuille. Le taux de mutation ainsi estimé est de $1,7 \times 10^{-5}$, une valeur qui se situe à la limite inférieure des taux de mutations déterminés pour les virus à ARN des animaux. A ma connaissance, aucun système de relecture et de corrections n'a été identifié pour la réplication des génomes à ARN (Steinhauer, Domingo, and Holland 1992).

L'absence d'un tel système ne serait pas forcément le résultat d'un problème mécanistique insoluble, mais pourrait faire partie d'une stratégie évolutive des virus à ARN pour résoudre le compromis évolutif décrit ci-dessus (Drake 1993). Le taux de mutation des rétrovirus et rétrotransposons est environ 10 fois inférieur à celui des virus à ADN. Par extrapolation on pouvait estimer que les virus de plantes de la famille Caulimoviridae qui ont un génome à ADN mais passe par une phase ARN pour leur réplication, pourraient présenter un tel taux de mutation (Garcia-Arenal, Fraile, and Malpica 2001), ce qui semble cohérent avec le large spectre de mutant obtenus lors d'un cycle d'infection dans une plante inoculée avec un clone de CaMV (Blanc, communication personnelle). Enfin, les taux de mutation déterminés pour des microorganismes présentant des génomes à ADN sont les plus faibles. Ils se situent entre 7×10^{-7} et 7×10^{-11} suivant la taille des génomes considérés (Drake et al. 1998). Exprimé au niveau génomique, le taux de mutation est de 0.003 mutations par copie de génomes pour tous ces organismes à ADN y compris 4 phages (M13, λ , T4 et T6), ce qui révèle que la fidélité des polymérases aurait tendance à augmenter avec la taille des génomes à répliquer.

La différence des taux de mutation détectés lors de la réplication de 2 phages présentant des génomes de taille comparable mais de nature différente, ADN pour M13 (4,2kb), ARN pour Q β (6,4kb) est particulièrement éloquent quant à la différence de fidélité de réplication des ARN et des ADN. En effet, la réplication du génome du phage à ARN présente un taux de mutation 1000 fois supérieur à celui du phage à ADN au sein du même hôte, *Escherichia coli* (Drake 1993). Dans ce contexte, on pouvait supposer que les virus à ADN de plante qui dépendait des polymérases de l'hôte pour leur réplication, étaient répliqués selon un taux comparable à celui du phage M13 et ceci d'autant plus que la taille et la nature (ssDNA) de leur génome était comparable ; les géminivirus monopartites tels que le MSV ou le TYLCV présente un génome d'environ 2,8kb. Les fréquences de mutation détectées sur des isolats de géminivirus obtenus après un cycle d'infection dans une plante, ne semblaient cependant pas cohérentes avec cette prévision (Figs 10 et 11) (Isnard et al. 1998; Urbino et al. 2008). A défaut d'isolement par lésion locale, la population de MSV utilisée pour initier le cycle d'infection dans une plante de maïs a été isolée lors d'une transmission dans des conditions limites à l'aide d'une seule cicadelle vectrice maintenue pendant une minute sur la plante source et 5 minutes sur la plante à inoculer (Fig. 10A). La population virale SP1 obtenue sur cette plante inoculée dans des conditions limites de transmission présente une fréquence de mutation de $0,38 \times 10^{-3}$ mutations par nucléotide séquencé (Fig. 10B) (Isnard et al. 1998). Cette fréquence de mutation était comparable à celle obtenue pour des populations de virus à ARN sélectionnés de façon similaire, le Tobacco mosaic virus ($0,5-1,5 \times 10^{-3}$), le cucumber mosaic virus ($0,5-1,8 \times 10^{-3}$) et le cowpea mosaic virus ($0,07 \times 10^{-3}$) (Schneider and Roossinck 2000, 2001) ; ces populations virales ont été extraites 15 à 20 jours post-inoculation sur deux plantes qui avaient été inoculées mécaniquement avec un extrait brut obtenu à partir d'une plante inoculée avec un clone infectieux. Pour obtenir une estimation grossière et maximum du taux de mutation d'un begomovirus, nous avons compté le nombre de mutations dans une population virale obtenue après 36 jours de réplication au sein d'une plante de tomate inoculée avec un clone de TYLCV (Fig. 11A) (Urbino et al. 2008), et l'avons divisé par la durée d'un cycle d'infection mesurée en protoplaste de tabac pour un autre begomovirus, le Tomato golden mosaic virus (Brough et al. 1992) ; avec un nombre de mutation générées en 36 jours (864 heures) de $0,138 \times 10^{-3}$ par site, et un cycle de réplication de 20 heures entre la transfection de protoplaste et la première détection d'ADN simple brin circulaire, le taux de mutation serait au minimum de $0,32 \times 10^{-5}$ mutation par site et par re-copie. Bien que plus faible que le taux de mutation du TMV ($1,7 \times 10^{-5}$) (Malpica et al. 2002), le taux estimé pour le TYLCV est largement inférieur à la fidélité des polymérases répliquant les ADNs d'eucaryote, de l'ordre de 10^{-10} mutation par nucléotide et par re-copie (Drake et al. 1998). La population SP1 a été conservée pendant 4 ans sur une plante pérenne, *Coix lacryma*

jobi, ce qui nous a permis de mesurer sur la population fille ainsi obtenue, appelé SP2, le taux d'accumulation des mutations, ou taux de substitution au cours du temps. La séquence consensus de SP2 présente 2 mutations par rapport à la séquence consensus de SP1, ce qui revient à un taux de substitution de 0.2×10^{-3} par site et par année. Les estimations Bayésiennes du taux de substitution obtenus ultérieurement pour le TYLCV sur la base des séquences disponibles dans les banque (10^{-3} - 10^{-4}) est cohérente avec notre mesure et est en faveur d'une évolution rapide, comparable à celle de virus à ARN (Duffy and Holmes 2008). Cette tendance n'est pas propre aux virus de plante car il avait été montré par la même équipe que des virus à ADN simple brin d'animaux de la famille *Parvoviridae* (canine parvovirus et le erythrovirus B19 humain) évolue eux aussi comme des virus à ARN (Shackelton and Holmes 2006; Shackelton et al. 2005).

Les taux d'erreur des polymérases de l'hôte sont estimées à environ 10^{-10} mutation par nucléotide et par re-copie (Drake et al. 1998). Il peut paraître paradoxal que des virus tel que les géminivirus, qui dépendent de telles polymérases pour leur réplication, présentent un taux de mutation 100000 fois supérieur. Dans une perspective évolutive, ce paradoxe peut s'expliquer par le désavantage que peut représenter une re-copie trop fidèle des génomes qui peuvent nuire à la capacité d'adaptation des virus à des environnements variables. Le problème est ici à l'inverse des virus à ARN pour lesquels il était suggéré qu'une fidélité accrue des ARN polymérases ARN dépendante n'était pas une impossibilité mécanistique mais le résultat d'une stratégie évolutive. Pour les virus à ADN il est d'autant plus évident qu'une re-copie plus fidèle était possible, la machinerie répliquative de l'hôte, y compris la relecture et la correction de misappariements, étaient en quelque sorte à la disposition de ces virus comme c'est le cas des bactériophages à ADN dont les génomes sont répliqués avec une grande fidélité. Se priver de cette machinerie hautement sophistiquée relève pour ces virus d'une stratégie évolutive. De plus, quand on considère les mécanismes très différents de la re-copie des génomes entre virus à ADN et virus à ARN il est intéressant de constater que dans les deux cas, cette même stratégie évolutive a conduit ces virus à des taux de mutation comparables. Si la différence de fidélité de re-copie des ADNs chromosomiques de l'hôte par rapport aux ADNs viraux venait uniquement de la forme circulaire des ADNs de géminivirus et de leur stratégie de réplication en cercle roulant, on ne comprendrait pas les taux de mutation également élevé des parvovirus qui ont un génome linéaire. La faible fidélité de réplication des géminivirus serait liée à l'absence de méthylation des génomes viraux et à un déficit de correction des misappariements, comme cela a été montré pour un bégomovirus de la tomate (Brough et al. 1992; Inamdar et al. 1992).

Pour revenir à la question de l'émergence, ce n'est pas la variabilité génomique par elle même qui est crucial, mais les phénotypes potentiellement virulents qui sont déterminés par cette variabilité. Dans le cas du MSV nous avons dérivés différents isolats d'une population virale servant au criblage de variétés de maïs pour la résistance au MSV (Fig. 10A) (Isnard et al. 1998). Pour un des isolats, la population virale a été passée 5 fois sur des variétés de maïs présentant un niveau élevé mais pas complet de résistance. La population N2A ainsi sélectionnée a progressivement gagné en virulence et a été analysée par RFLP et séquençage sur 40 génomes totaux obtenus sans amplification PCR. On remarque tout d'abord que la fréquence de mutation obtenue avec cette population, $0,69 \times 10^{-3}$, confirme que la variabilité du MSV est comparable à celles des virus ARN (voir ci-dessus). L'originalité du nuage de mutants de N2A est sa forte proportion de mutations (5 sur 9) détectées sur au moins 2 clones; en comparaison, aucune des 7 mutations de SP1 n'a été trouvée sur plusieurs clones et seul 2 sur 18 pour la population SP2 (Fig. 10B). Certaines de ces 5 mutations répétées de N2A semblent avoir été sélectionnées pour assurer de façon coordonnée le contournement de la

résistance. De même il a été suggéré que la colonisation des tissus du cerveau par le poliovirus ne pouvait se faire que par un phénomène de coopération au sein d'une population présentant un niveau suffisant d'hétérogénéité (Vignuzzi et al. 2006). Les clones issus de la population N2A sont en général moins virulents que la population N2A ce qui est cohérent avec l'hypothèse de la coopération. La population SP1 a été maintenue pendant 4 ans sur une plante de *Coix lacryma jobi*, sans transmission par vecteur. On remarque tout d'abord que le relâchement de la pression de sélection exercé par le vecteur n'a pas fait perdre la transmissibilité par vecteur de la population, ce qui était cohérent avec la pléiotropie de la protéine de capsid qui est non seulement impliquée dans la spécificité de transmission par vecteur, mais également dans le transport de l'ADN viral vers le noyau (Liu et al. 1999). Les 2 positions nucléotidiques qui distinguent les séquences consensus de SP1 et SP2 induisent chacune un changement peptidique de la protéine Rep impliqués dans la réplication. Le fait que ces deux changements soient non synonymes et présents sur une protéine qui est connu pour interagir avec plusieurs protéines de plante au sein du complexe de réplication, suggère qu'elles ont été sélectionnées. On ne peut cependant pas exclure un effet de la dérive.

Pour tester le potentiel d'émergence de variants virulents apparus par mutation au cours d'un seul cycle d'infection dans une plante, quatre des mutants qui ont servi à déterminer le taux mutation du TYLCV (voir ci-dessus) ont été testés pour leur virulence (réduction de poids secs des parties aériennes de la plante) et leur valeur sélective (accumulation virale, qPCR) (Fig. 11B) (Urbino et al. 2008). Un des quatre mutants qui a subi une insertion dans la région intergénique s'accumule plus rapidement dans la plante au début de l'infection et présente une virulence significativement plus forte par rapport au clone parental. Ces travaux préliminaires sur un nombre réduit de clones montrent que le TYLCV présente un potentiel d'émergence non négligeable par le biais de mutations ponctuelles apparues en un seul cycle d'infection.

Par des mutations ponctuelles, un virus peut théoriquement explorer toutes les positions de son vaste espace de séquences. Cependant son statut de parasite absolu lui impose de lourdes contraintes qui entravent cette exploration exhaustive des séquences. En environnement constant, le virus peut compter sur un équilibre de mutation- sélection qui lui permet d'assurer sa pérennité si toutefois sa population efficace est assez grande pour lui éviter de subir les conséquences négatives de la dérive. En environnement variable par contre, le virus a besoin de recourir à sa capacité à explorer son espace de séquence pour y puiser des formes nouvelles plus adaptées aux nouveaux environnements. C'est là que le paramètre temps peut devenir crucial, le processus d'exploration de l'espace des séquences par mutation successive pouvant s'avérer trop lent pour assurer sa survie. Une autre contrainte est que les pics adaptatifs sont séparés par des vallées de valeur sélective faible que le virus aura du mal à franchir par petites étapes de mutations ponctuelles (Elena and Sanjuan 2007). C'est là que certains virus tels que les géminivirus peuvent avoir recours à la recombinaison qui permet entre autre d'accélérer l'exploration de l'espace des séquences et de franchir plus facilement des vallées dans le paysage adaptatif du virus.

3.1.2 Recombinaison

Alors que la mutation est le seul phénomène qui crée réellement des modifications élémentaires dans la chaîne nucléotidique des génomes, la recombinaison est un phénomène qui permet d'associer ou de dissocier ces modifications. Une littérature très fournie témoigne de l'importance de ce phénomène chez les virus de la famille *Geminiviridae*, et tout particulièrement au sein du genre *Begomovirus*. Dans le paragraphe précédent, nous avons vu que les géminivirus produisait facilement de la variabilité par mutation et que ces mutations pouvaient engendrer des variants avec des propriétés nouvelles. Ici nous nous intéressons à la

façon dont les gémivirus « retravaillent » cette diversité par des phénomènes de recombinaison. Le foisonnement des espèces de gémivirus décrites au cours des 10 dernières années est vraisemblablement une des manifestations de la grande activité de ce double générateur de variabilité, la mutation et la recombinaison. Suite à cet accroissement récent d'espèces identifiées, la famille *Geminiviridae* a détrôné l'emblématique famille des *Potyviridae* dans le classement des familles contenant le plus d'espèces virales.

Des études de la réplication des gémivirus au niveau moléculaire et cellulaire révèlent que la recombinaison n'est pas un phénomène accidentel, mais au contraire fait partie du métabolisme du virus. Initialement, au début des années 90s, trois observations convergentes ont permis de mettre en évidence un mécanisme de réplication comparable à celui des plasmides bactériens, dit du cercle roulant (Rolling circle replication ou RCR). Ces observations étaient : (i) la forme, la polarité et la longueur des ADN viraux isolés sur agarose par électrophorèse bidirectionnelle (Saunders, Lucy, and Stanley 1991) (ii) la libération précise d'une copie de génome viral au niveau d'une potentielle origine de réplication, à partir d'une construction agroinfectieuse contenant le génome viral en tandem (Stenger et al. 1991), (iii) la parenté moléculaire entre la protéine viral Rep et une protéine bactérienne initiatrice de la réplication en cercle roulant (Koonin and Ilyina 1992). La protéine Rep, universellement codée par tous les gémivirus, est la seule protéine du virus qui est indispensable à la réplication (Gutierrez 2002). Ce n'est pas une polymérase mais c'est elle qui recrute le complexe de réplication de l'hôte sur les ADN viraux à répliquer. Elle présente aussi des activités de restriction et de ligation de l'ADN simple brin néoformé (Heyraud-Nitschke et al. 1995), deux fonctions importantes dans les mécanismes de recombinaison (Mosig 1998). Il a été montré par la suite sur la base d'un examen approfondi des ADN viraux séparés selon une autre technique d'électrophorèse bidirectionnelle, que la recombinaison serait impliquée dans une deuxième voie de réplication appelé « Recombination Dependent Replication » ou « RDR » (Jeske, Lutgemeier, and Preiss 2001). Les formes compatibles avec du RDR ont été mises en évidence pour l'Abutilon mosaic virus, et par la suite pour d'autres espèces telle que le Tomato leaf curl virus (Alberter, Rezaian, and Jeske 2005). L'une de ces formes, typique d'un mécanisme de RDR, à savoir de l'ADN circulaire superenroulé associé à de l'ADN double brin linéaire, a pu être visualisées en microscopie électronique. Cette forme serait le résultat d'une invasion de l'ADN double brin circulaire par une extrémité libre d'un ADN simple brin, au niveau d'une région complémentaire. Il a été suggéré, à l'instar du bactériophage T4 que les deux mécanismes de réplication, pourrait intervenir de façon chronologique (Ascencio-Ibanez et al. 2008). La protéine virale Rep reprogramme le cycle cellulaire et initie la RCR à partir de l'origine de réplication. L'accumulation des produits de réplication de la RCR initierait une réponse génotoxique induisant la synthèse de protéines de réparation y compris des recombinases codées par l'hôte qui permettrait au mécanisme de la RDR de s'enclencher. A la différence du phage T4 dont le génome de 170kb code pour ses fonctions de recombinaison (au moins 32 gènes) (Mosig 1998), on voit mal comment, en dehors de la protéine Rep qui présente certes des fonctions de restriction et de ligation, le « minuscule » génome d'un gémivirus doté d'un maximum de 3kb (6kb pour les génomes bipartite), pourrait coder pour toutes les fonctions nécessaires à la recombinaison. Alors qu'il a été montré que les fonctions de recombinaison de l'hôte ne fonctionnent pas sur l'ADN du phage T4, il faut supposer que dans le cas de l'ADN des gémivirus c'est possible. La séparation des ADN viraux par électrophorèse et leur observation en microscopie électronique a révélé pour plusieurs espèces de gémivirus des formes défectives dont la taille correspondait généralement à la moitié du génome total, aux alentours de 1.3kb (Stanley 1985; Stanley et al. 1997; Urbino et al. 2007). Ces molécules défectives attestent d'une importante activité de recombinaison et ceci d'autant

plus que les molécules défectives contiennent parfois des séquences non virales; par un clonage direct sans aucune étape d'amplification pouvant générer des recombinants artéfactuels, nous avons obtenu une molécule défective de TYLCV contenant une séquence non virale, au cours d'un cycle d'infection de 36 jours dans une plante inoculée avec un clone infectieux (expérimentation présentée sur la Fig. 11A) (Urbino et al. 2008; Urbino et al. 2007). Ces ADN défectifs ont une taille maximum correspondant à la moitié des génomes complets probablement en raison des contraintes d'encapsidation imposées par les particules virales icosaoédriques non géminées (Fig. 1D) (Casado et al. 2004; Frischmuth, Ringel, and Kocher 2001). Une particule icosaoédrique de géminivirus formé de 12 capsomères ne peut en effet encapsider qu'un fragment d'ADN de 1,3kb. Pour encapsider les fragments génomiques complets (2,7-3kb) la particule doit être constituée de deux icosaoèdres incomplets formés chacun de 11 capsomères (Zhang et al. 2001). Une autre contrainte de taille exercée sur les ADN viraux au moment du mouvement de cellule à cellule, atteste elle aussi de l'efficacité de la recombinaison. Des travaux pionniers à l'aide de génomes mutants infectieux de l'African cassava mosaic virus présentant des délétions dans le gène de la protéine de capsid (composant A), montre que leur taille native est restaurée par recombinaison au cours d'une infection systémique dans *Nicotiana benthamiana* (Etessami, Watts, and Stanley 1989; Klinkenberg, Ellwood, and Stanley 1989). Il est à noter qu'en absence de protéine capsid, l'encapsidation ne peut pas être incriminée pour expliquer la restauration de taille. Pour un des trois clones séquencées, la restauration de taille du composant A s'est fait par recombinaison avec le composant B. Cette contrainte de taille au moment de l'infection systémique n'a pas été observée en cas d'infection de protoplaste de *N. tabacum* par l'ACMV ni lors d'une infection systémique de *N. benthamiana* par le Tomato golden mosaic virus (Gardiner et al. 1988). Plus récemment, la preuve inverse d'une contrainte de taille a été démontré, en utilisant des clones infectieux du BDMV dont la taille du composant génomique A a été augmentée de 0,8kb par rapport au génome sauvage en remplaçant le gène de la CP par un gène codant pour la GFP (Gilbertson et al. 2003). Comme pour le ACMV, la taille du génome sauvage est restaurée par des événements de recombinaisons et fréquemment avec le composant B. Ces auteurs montrent que la recombinaison produit une large gamme de recombinants de taille et de nature différente. Les recombinants dont la taille est comparable à celle du génome sauvage sont favorisés pour le mouvement de cellule à cellule. La CP étant absente de ces constructions, ce n'est pas l'encapsidation qui doit être incriminée pour expliquer la sélection de taille. Cette sélection serait plutôt déterminée par les protéines de mouvements codés par le virus (BV1 et BC1), car il a été montré que leur interaction avec des ADN est dépendante de la taille des ADN mais pas de leur séquence (Rojas et al. 1998).

En résumé, outre notre découverte d'un ADN défectif de TYLCV ayant intégré une séquence d'origine inconnue au cours d'un cycle d'infection d'un clone de TYLCV dans une plante (Urbino et al. 2008; Urbino et al. 2007), de très nombreux rapports décrivent des formes génomiques recombinantes générées en conditions expérimentales. La recombinaison ne serait donc pas accidentel mais plutôt un mécanisme « ordinaire » qui fait partie du cycle de réplication du virus ; les fonctions d'endonucléase et de ligases décrites pour la protéine virale Rep, sont des fonctions habituellement associées à la recombinaison, et la RDR, un des mécanisme de réplication des géminivirus, fait intervenir de la recombinaison.

Cette propension à la recombinaison des géminivirus est compatible avec les nombreuses traces de recombinaison détectables dans les séquences génomiques disponibles dans les banques de séquences. Des traces de recombinaison ont été mises en évidence dans la plupart des génomes de géminivirus (Lefeuvre et al. 2007; Padidam, Sawyer, and Fauquet 1999), ce

que nous avons confirmé pour des géminivirus de la tomate, indigènes des îles du sud ouest de l'Océan Indien (Fig. 12) (Delatte, Martin et al. 2005).

Les effets de la recombinaison restent généralement inaperçus au sein d'une population virale infectant une plante, car une telle population est généralement constituée d'un nuage de virus qui ne diffèrent que par quelques mutations ponctuelles. Bien que les mécanismes de la mutation et de la recombinaison soient fondamentalement différents, l'effet de la recombinaison qui associe ou dissocie des mutations existantes, sera dans ce cas difficilement distinguable de l'effet de la mutation. Par contre quand la population virale au sein d'une plante est constituée de représentants de souches ou d'espèces virales différentes, l'effet de la recombinaison sera alors bien différent de l'effet de la mutation. La recombinaison pourra potentiellement créer des formes totalement différentes des virus parentaux au niveau génétique et phénotypique, comme en témoigne la description de formes recombinantes dans des épidémies récentes causées par des géminivirus sur coton au Pakistan (Sanz et al. 2000) et sur manioc en Ouganda (Pita et al. 2001). Par ailleurs, depuis la découverte de l'introduction du TYLCV en Espagne en 1997, des événements de recombinaison entre le TYLCV et un bégomovirus local, la souche espagnole du Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV-ES) ont fait émerger deux recombinants qui sont considérés aujourd'hui comme des espèces nouvelles, le Tomato yellow leaf curl Malaga virus (TYLCMaV) (Monci et al. 2002) et le Tomato yellow leaf curl Axarquia virus (Garcia-Andres et al. 2006). L'apparition de ces deux nouvelles espèces démontrent formellement que la recombinaison peut produire des virus dont la valeur sélective est suffisamment élevée pour permettre leur émergence. De plus ces deux recombinant présentent un phénotype nouveau avec dans les deux cas une gamme d'hôte étendue par rapport à celle des parents. Enfin, le recombinant TYLCMaV tend à s'imposer dans la région où il a été détecté.

3.2 Projet

Les résultats décrits ci-dessus soulignent l'importance de la recombinaison dans le risque d'émergence au sein de la famille des géminivirus. Le projet proposé consiste à analyser le risque d'émergence par recombinaison, un processus qui peut être divisé en 3 étapes:

- 1 - Rencontre de souches ou d'espèces différentes de géminivirus dans un même agro écosystème
- 2 - Flux de gènes entre les deux espèces virales
- 3 - Production d'un recombinant présentant un potentiel d'émergence

La première étape du processus d'émergence, à savoir, le risque de rencontre entre des souches ou espèces différentes, est principalement liée à la transmission par vecteur et dans le cas des bégomovirus, à l'aleurode, *Bemisia tabaci*. De nombreux résultats décrivent ce risque qui peut être résumé comme suit. Tous les bégomovirus sont transmis par une seule et même espèce de vecteur, *B. tabaci*, selon le mode circulant persistant. Les adultes de *B. tabaci* mesurent moins de 2 mm en longueur et les larves de premier stade, 0.2mm. La gamme d'hôte de *B. tabaci* est très large et comprend notamment des espèces ornementales qui font l'objet de commerce international. Bien que le risque de dissémination des bégomovirus par leur vecteur est bien connu, il s'avère extrêmement difficile d'assurer un contrôle total de ce risque comme en atteste la diffusion du TYLCV, une espèce originaire du Moyen Orient et qui est maintenant décrite dans de nombreuses zones de culture de la tomate, en Europe, en Afrique, en Amérique, et en Asie. Nos résultats sur l'introduction du TYLCV à La Réunion ou au Maroc montrent que dans les deux cas le biotype B de *B. tabaci*, originaire de la même zone

géographique que le TYLCV, a également été introduit (Delatte, Reynaud et al. 2005; Peterschmitt, Granier, and Aboulama 1999; Peterschmitt et al. 1999; Tahiri et al. 2006). Parfois, le TYLCV a également été disséminé par des plantes de pépinières. Enfin, il est possible que le commerce des tomates a pu participer à la diffusion du TYLCV qui, comme nous l'avons montré en condition expérimentale, peut être acquis et transmis à partir de fruits récoltés sur plantes infectées (Delatte et al. 2003).

Etant donné que le risque de déplacement de bégomovirus est bien décrit, le projet de recherche proposé ci-dessous se focalise sur les étapes 2 et 3 du processus d'émergence décrit ci-dessus.

3.2.1 Flux de gènes entre deux espèces virales

Pour qu'il y ait flux de gènes entre deux espèces virales, il est nécessaire que ces deux espèces partagent un hôte commun. Cette situation est fréquente dans le cas des bégomovirus dont les groupes phylogénétiques sont congruents avec les groupes géographiques et non avec les espèces hôtes. Il est donc fréquent de trouver plusieurs espèces virales infectant le même hôte. Dans le cas de la tomate par exemple, on constate que dans toutes les régions où cette espèce d'origine américaine a été introduite dans l'Ancien Monde, un virus local a réussi à s'y adapter. C'est ainsi qu'une quarantaine d'espèces de bégomovirus appartenant à des groupes phylogénétiques différents, ont été isolées sur tomate dans l'Ancien Monde. On notera au passage que cette diversité de virus sur tomate est une manifestation supplémentaire de la capacité remarquable des gémiovirus à s'adapter à un environnement nouveau, en l'occurrence, la tomate. Une situation similaire a été décrite dans le cas des bégomovirus du manioc.

Pour qu'il y ait flux de gène il faut non seulement que les deux virus co-infectent une même plante, mais qu'il y ait également co-infection au niveau cellulaire. Une co-infection de 0,05% des cellules a été détectée 1 mois après co-inoculation du TYLCV et du TYLCSV dans une plante (Morilla et al. 2004) mais ces recherches n'ont pas été associées à la détection de recombinants. De plus la co-infection avait été réalisée avec une méthode d'inoculation artificielle (agro-inoculation) qui ne reproduit pas forcément l'inoculation naturelle dans le phloème par l'aleurode. Si l'on considère la propension des gémiovirus à la recombinaison, on peut supposer que le facteur limitant pour le flux de gène entre deux espèces virales infectant une même plante est de pouvoir co-infecter une même cellule. Plusieurs projets sont proposés autour de cette question

3.2.1.1 Caractérisation de la relation entre le flux de gène et le pourcentage de cellules co-infectées. Nous chercherons à tester si la détection de recombinants interspécifiques dans une plante co-infectée par deux espèces virales est dépendante du taux de co-infection des cellules. Pour cela nous utiliserons deux virus isolés sur tomate et appartenant à des groupes phylogénétiques distincts, le TYLCV provenant du Moyen Orient et une des espèces indigènes du groupe des bégomovirus du Sud Ouest de l'Océan Indien, le Tomato yellow leaf curl Mayotte virus (ToLCYTV) (Delatte, Martin et al. 2005). D'après la littérature sur le TYLCV et nos travaux de détection in situ sur TYLCV et ToLCYTV par immunomarquages en microscopie électronique, ces deux virus sont limités au phloème (cellule compagne et tubes criblés) et n'ont été détectés que dans un très faible pourcentage de cellule de ce tissu ; environ 1 cellule sur 30 a présenté de l'immunomarquage en utilisant des anticorps anti-CP. En supposant que les bégomovirus ne contrôlent pas la MOI, la probabilité de co-infection serait très faible. Pour chaque virus, un clone infectieux a été préparé dans un vecteur binaire d'*Agrobacterium tumefaciens*, selon une nouvelle stratégie de clonage que nous avons

développée pour le phénotypage à haut débit (Urbino et al. 2008). Les deux clones d'*A. tumefaciens* portant les génomes infectieux du TYLCV et du ToLCYTV respectivement, sont co-inoculés à une concentration égale dans la plante. L'émergence de génomes recombinants et le taux de cellules co-infectées seront suivis à un rythme mensuel. L'ADN viral sera cloné à partir de l'ADN total de la plus jeune feuille déployée après une étape d'amplification dite en « cercle roulant » à l'aide du kit TempliPhi (GE Healthcare). Les génomes recombinants seront détectés par RFLP et séquençage. Le taux de cellules co-infectées sera déterminé sur la base de noyaux isolés à partir de jeunes feuilles et dont le statut d'infection sera déterminé par hybridation à l'aide de sonde spécifique. Les sondes seront marquées avec de la DIG ou de la biotine, détectées respectivement avec des anticorps anti-DIG conjugués à la peroxydase ou de la streptavidine conjugué à de la phosphatase, et révélées avec des substrats de couleurs différentes.

Si le facteur limitant pour l'émergence de recombinants est réellement la co-infection des cellules, le forçage de la co-infection dès l'inoculation devrait permettre l'émergence précoce de recombinants ; une première estimation du délai d'apparition de recombinants sur une plante de tomate co-agroinfectée avec deux begomovirus (TYLCV et TYLCSV) est de 2 et 4 mois (Garcia-Andres et al. 2007). Pour cela nous construisons un plasmide binaire contenant les deux génomes infectieux TYLCV et ToLCYTV. Grâce à notre nouvelle stratégie de clonage qui a réduit la taille des constructions infectieuses à une unité génomique avec une redondance de 40 nucléotides seulement (Urbino et al. 2008), la taille de cette construction ne devrait pas être un facteur limitant. Comme dans l'expérimentation précédente, l'émergence de génomes recombinants et le taux de cellules co-infectées seront suivis au cours du temps. Etant donné que les recombinants sont attendus dès les premiers cycles de multiplication, le premier prélèvement sera effectué une semaine après l'inoculation ; nous savons par des cinétiques d'infection qui confirment les données de la littérature que le virus peut être détecté en systémie dans un délai aussi bref.

3.2.1.2 Les begomovirus contrôlent ils le niveau de coinfection ? Les expérimentations proposées dans le projet 3211 fourniront un jeu de données dans lequel la fréquence de noyaux co-infectés pourra être comparée à la fréquence de noyau mono-infectés par chacun des virus. On pourra déduire des fréquences de mono-infection par chacun des virus, une probabilité de co-infection, à condition de pouvoir estimer la proportion de cellules phloémiennes, les seules qui peuvent être infectées par le TYLCV et ToLCYTV. En comparant cette probabilité de co-infection à la fréquence de co-infection réelle observée, on pourra déterminer si ces begomovirus influencent le taux de co-infection. Une estimation grossière de la proportion des cellules phloémiennes par rapport à l'ensemble des cellules pourra être déduite d'un comptage des cellules sur coupes histologique du tissu analysé. Cependant, pour estimer de façon formelle la MOI, une estimation qui n'est disponible pour aucun begomovirus à ce jour, il sera nécessaire d'utiliser un begomovirus qui n'est pas restreint au phloème tel que le Potato yellow mosaic virus, un virus qui peut être inoculé mécaniquement et dont un clone infectieux est disponible dans notre laboratoire. La co-infection sera réalisée avec le clone sauvage et un variant du clone sauvage modifié par introduction d'un site de restriction unique et neutre dans la région intergénique du génome. Ce site de restriction sera créé dans la région précédemment ciblée pour développer la nouvelle stratégie de clonage (Urbino et al. 2008), car elle est tolérante à des changements de séquence sans modification apparente du phénotype. Pour analyser le niveau de co-infection, des protoplastes seront générés et isoler selon une technique développée au laboratoire par les collègues travaillant sur la MOI du Cauliflower mosaic virus. Une amplification de la région

modifiée suivi d'une restriction permettront de déterminer le statut d'infection des protoplastes sur la base des profils de restriction.

3.2.1.3 Impact de la transmission par vecteur sur la fréquence de co-infection et sur le flux de gène. Si les expérimentations prévus dans le projet 3211 révèlent que le facteur limitant dans l'émergence de recombinant est le taux de cellules co-infectées, les résultats d'émergence de recombinants obtenus sur des plantes co-infectées par transmission naturelle à l'aide d'aleurode vecteur pourraient être sensiblement différents de ceux obtenus avec des plantes agroinfectées. En effet, dans le cas d'une transmission par aleurode, les virus sont directement inoculés dans les tissus permettant la réplication des génomes viraux alors que par infiltration, les virus sont déposées dans des cavités sous-stomatiques en contact de tissus qui ne sont généralement pas compatibles avec le développement du virus. De plus en condition naturelle, la transmission circulante et persistante des bégomovirus peut permettre à des virus acquis séparément sur différentes plantes hôtes au cours des déplacements de l'aleurode, d'être inoculés simultanément sur un même plante hôte et plus précisément dans la même cellule d'un tube criblé. Pour tester l'influence de la transmission par l'insecte vecteur sur l'émergence de recombinant des aleurodes seront mis en acquisition sur une plante co-infectée, 30 jours après son agro-inoculation. Cette plante agro-infectée est celles qui est utilisée dans le projet 3211 pour suivre la relation entre flux de gènes et niveau de co-infection. Après deux jours d'acquisition, ces aleurodes pris individuellement serviront à inoculer des jeunes plantes de tomate. Trois de ces plantes qui auront été trouvées co-infectées par les deux virus seront testées mensuellement pour détecter l'émergence de génomes recombinants et le taux de cellules co-infectées. En comparant la dynamique de ces deux paramètres sur la plante agro-infectée (projet 3211) et sur les plantes inoculées par aleurode nous pourrions tester l'influence du vecteur sur l'émergence de recombinant.

Des résultats sur la dynamique d'accumulation du virus suggèrent que le TYLCV se multiplie dans son vecteur, *B. tabaci* (Czosnek et al. 2001). Il n'est donc pas exclu que des recombinants puisse être formés au moment du passage dans le vecteur. Pour sonder ce compartiment, plusieurs centaines de jeunes adultes du vecteur *B. tabaci* seront alimentés pendant 2 jours sur une plante infectée par le TYLCV, puis alimentés pendant 12 heures sur une plante infectée par le ToLCYTV. Cette deuxième période d'acquisition doit être plus courte que le temps de génération des begomovirus estimé à 20 heures (Brough et al. 1992), pour éviter que des recombinants TYLCV /ToLCYTV ne soient générés dans la plante infectée par le ToLCYTV et aquis par le vecteur. Parallèlement, un autre groupe de plusieurs centaines de *B. tabaci* sera soumis aux mêmes acquisitions mais en commençant par une plante infectée par le ToLCYTV puis par une plante infectée par le TYLCV. Les aleurodes seront ensuite placés sur une plante non hôte (concombre) pendant 15 jours. Pour chacun des traitements, l'ADN sera extrait sur un groupe de 100 adultes. L'ADN viral sera amplifié par TempliPhi et cloné. Les recombinants seront recherchés par RFLP et séquençage.

La possibilité d'une implication directe du vecteur dans la génération de recombinants a renforcé un projet sur le vecteur, dans la continuité des interactions virus vecteur mis précédemment en évidence pour le couple MSV- *Cicadulina mbila* (voir chapitre 2, paragraphe 251 et Fig. 7). Alors que le TYLCV a été détecté par immunomarquage dans l'aleurode *B. tabaci*, aucun virion n'y a jamais été observé. Ces résultats obtenus pour le TYLCV mais plus généralement pour les bégomovirus contrastent avec les interactions virus-vecteur que nous avons révélées pour le MSV, un géminivirus du genre Mastrevirus (Ammar et al. 2009; Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992). Le MSV a pu être détecté sous forme de virions dans le vecteur, *Cicadulina mbila* (Fig. 7C, 7D) (Ammar et al. 2009) et

contrairement au TYLCV, aucune indication de réplication dans le vecteur n'a été obtenue (Lett et al. 2002; Reynaud and Peterschmitt 1992). La différence de comportement alimentaire entre *C. mbila* et *B. tabaci* avec ou sans gobage cellulaire respectivement, pourrait expliquer que les virions de MSV soient ingérés plus massivement que ceux du TYLCV. Le « gobage » des cellules pratiqué par *C. mbila* avant d'accéder aux tubes criblés a pour conséquence l'éclatement des chloroplastes (Fig. 5D) et probablement du noyau, le site d'accumulation des virions du MSV mais aussi des géminivirus dans leur ensemble. S'il est communément admis que les géminivirus circulent à travers le corps du vecteur sous forme de virions (Caciagli et al. 2009), on ne comprend pas encore très bien comment *B. tabaci* peut y avoir accès dans la plante. A ma connaissance, aucun résultat n'a permis de montrer que le mouvement de cellule à cellule ou à plus longue distance se faisait sous forme de virions. Le mouvement se ferait plutôt sous forme d'un complexe « génome- protéine de capsid », ou, pour les virus ayant un composant génomique « B » porteur des fonctions de mouvement, sous forme d'une nucléoprotéine contenant des protéines de mouvement. Les virions seraient donc limités au compartiment nucléaire, un compartiment apparemment inaccessible à *B. tabaci* qui se contente de quelques brèves ponctions de repérage avant d'aboutir dans les tubes criblés. Pour concilier ce paradoxe, il a été suggéré que les virions pourraient être libérés dans les tubes criblés par dégénérescence des noyaux de cellules infectées du protophloème. Pour tester la présence de virions dans l'aleurode *B. tabaci* nous observerons par microscopie électronique des tubes digestifs d'aleurodes adultes qui ont été alimentés sur des plantes infectées par le TYLCV. Il sera probablement nécessaire de prolonger l'alimentation d'acquisition pendant plus d'une semaine, car dans le cas du MSV, l'accumulation de virions n'a été visible qu'après une alimentation d'acquisition de 7 jours (Fig. 7). Un test complémentaire consistera à rechercher des virions par microscopie électronique dans la salive de *B. tabaci* virulifères. Une centaine de jeunes adultes de *B. tabaci* alimentées pendant plusieurs jours sur une plante infectée par le TYLCV seront ensuite placés pendant quelques heures sur une membrane de parafilm recouvrant quelques microlitres d'une solution sucrée. Cette solution dans laquelle les vecteurs auront salivés, sera ensuite examinée en microscopie électronique à transmission pour y détecter des virions.

3.2.2 Potentiel d'émergence des recombinants

Une première estimation du potentiel d'émergence de recombinants a été obtenue par des collègues espagnoles. Ils ont mesuré la fréquence de recombinants détectés dans une plante co-infectée par des représentants des deux espèces ayant généré naturellement au champ des recombinants en Espagne (voir ci-dessus), le TYLCV et le TYLCSV (Garcia-Andres et al. 2007). La moitié des clones isolés 4 mois après co-inoculation sont de nature recombinante, alors qu'aucun clone recombinant n'a été détecté sur cette plante à 2 mois post-inoculation. Il est intéressant de noter que les 44 clones recombinants ainsi isolés présentent globalement la même composition : les gènes codés par le brin viral proviennent du TYLCSV et les gènes codés par le brin complémentaire du TYLCV. Tous les recombinants présentent un point de recombinaison au niveau de l'origine de réplication, ce qui semble cohérent avec le mode de réplication en cercle roulant qui engendre à cette position une coupure et religation sur lui-même du brin déplacé. Outre 3 recombinants qui présentent 4 ou 6 sites de recombinaison au total y compris celui de l'origine de réplication, les autres n'en présentent que deux. Les positions des sites de recombinaisons en dehors de l'origine de réplication ne sont pas aléatoires car ils se situent tous dans la région des gènes codés par le brin complémentaire. C'est également dans cette région que des hot spots de recombinaison ont été déterminés sur des séquences d'isolats naturelles disponibles dans les banques de séquences (Fig. 13) (Lefeuvre et al. 2007). Un recombinant inverse de ceux qui ont été naturellement produits a

été créé artificiellement avec les gènes viraux du TYLCSV et les gènes complémentaires du TYLCV. Cette chimère produit des symptômes typiques et accumule l'ADN viral de façon comparable aux clones parentaux, ce qui suggère que la contrainte qui a empêché un tel recombinant d'être détecté est plutôt d'ordre mécanistique que sélective (fitness insuffisant). Il est intéressant de noter que le pourcentage de recombinants au sein des plantes co-infectées par le TYLCV et le TYLCSV ne dépasse pas 50% même un an après la co-inoculation. Par contre il suffit d'un seul passage par des aleurodes vecteurs pour faire passer ce pourcentage à près de 100%. C'est sur cette augmentation du taux de recombinants après un seul passage par aleurode que le projet 3213 (ci-dessus) a été construit.

Les résultats de (Garcia-Andres et al. 2007) confirment que l'apparition de recombinant au sein d'une plante co-infectée semble fréquente mais les contraintes exercées sur la production et le maintien des recombinants restent pour le moment obscures. Le hot spot de recombinaison détecté dans la région intergénique est très clairement lié au mécanisme même de la réplication par cercle roulant qui coupe et religue les brins répliqués à l'origine de réplication située dans la région intergénique. Par contre on ne comprend pas encore très bien les hot-spots situés dans la région des gènes codés par le brin complémentaire. Ces hot-spots pourraient provenir d'une interférence mécanique liée au sens inverse de la réplication du génome par cercle roulant d'une part, et de la transcription des gènes du brin complémentaire d'autre part. Mais, il est également possible que les recombinants issus de tels événements de recombinaison présentent une valeur sélective accrue ou tout au moins comparable à celle des parents alors que les recombinaisons qui se produisent ailleurs sont délétères ou létales. Pour distinguer les contraintes mécanistiques des contraintes sélectives, nous proposons de mesurer la valeur sélective de recombinants aléatoires produits *in vitro*. Cette banque de recombinants permettra en plus de faire une analyse systématique de la distribution des effets phénotypiques de recombinaisons aléatoires entre deux génomes apparentés, ce qui n'a jamais été entrepris chez aucun virus. Alors qu'il a été déterminé que la majorité des mutations aléatoires ont un effet délétère ou léthal pour un virus (Sanjuan, Moya, and Elena 2004), nous n'avons aucune idée de la proportion des événements de recombinaison bénéfiques, délétères ou neutres pour le virus. Il est tacitement considéré que la recombinaison virale peut avoir un effet bénéfique quantitativement très important, mais dans la plupart de cas, ce credo n'a aujourd'hui aucun support expérimental solide.

Pour permettre de comparer les recombinants créés *in vitro* à ceux qui seront générés *in planta* (voir paragraphe 321- Flux de gènes entre deux espèces virales), nous avons choisis les mêmes clones parentaux dans les deux cas, le TYLCV et le ToLCYTV. Les recombinants *in vitro* ont été générés par «shuffling», une technique utilisée par l'industrie pharmaceutique pour augmenter la performance des protéines à usage thérapeutique (Fig. 14). Nous avons opté pour la variante «L-shuffling» car elle est basée sur des cycles de – dénaturation hybridation ligation- et non sur des étapes d'amplification qui pourraient générer des mutations. Le «L-shuffling» a été brevetée par la société Proteus à Nîmes, à qui nous avons sous traité cette opération.

Pour faciliter le test du phénotype des clones recombinants de cette banque, nous avons développé une nouvelle stratégie de clonage, car l'ADN génomique de nombreux begomovirus et en particulier du TYLCV et ToLCYTV n'est pas infectieux par inoculation mécanique. Ces ADN clonés ne sont infectieux que s'ils sont introduits dans la plante sous forme de tandem partiel ou complet et de préférence dans le T-DNA d'un vecteur binaire d'*Agrobacterium tumefaciens*. Les résultats de la littérature suggèrent que le pouvoir infectieux pouvait être obtenu en ne mettant en tandem que l'origine de réplication (41nt) ce

que nous avons récemment confirmé (Urbino et al. 2008). Cette stratégie sera utilisée pour le phénotypage des clones recombinants produits *in vitro*.

La valeur sélective sera tout d'abord estimée en mesurant l'accumulation virale d'une centaine de recombinants dans des plantes d'une variété sensible de tomate (Monalbo). Pour chaque clone, l'accumulation sera déterminée sur une quinzaine de plantes de tomate, testées individuellement par PCR quantitative (qPCR). La valeur sélective d'un clone et corrélativement sa capacité à émerger dépend non seulement de son niveau d'accumulation au sein d'une plante mais également de sa transmissibilité par vecteur et de sa capacité à effectuer son cycle de réplication sur un maximum d'espèce hôte. Nous choisirons des clones représentatifs des différentes classes d'accumulation virales au sein de la tomate pour évaluer leur transmissibilité par vecteur et leur capacité à infecter des hôtes alternatifs. Les hôtes potentiels pour un tel test sont, une variété de tomate tolérante au TYLCV, une espèce adventice telle que le *Datura stramonium*, ou un autre espèce cultivée telle que le haricot.

Pour des raisons agronomiques mais également fondamentales, nous mesurerons la virulence d'une gamme de clone par rapport à leur capacité reproductive. D'un point de vue agronomique, une émergence ne sera considérée comme grave, que si le virus qui émerge est nuisible pour les cultures. Pour le moment on ne sait pas si un virus qui s'accumule beaucoup dans les plantes est forcément un virus virulent (nuisible). La corrélation entre accumulation virale et virulence sera analysée sur une vingtaine de clones. La virulence sera estimée sur la base de la réduction de la taille et du poids sec des plantes. D'un point de vue fondamentale, l'hypothèse qui prédit un coût de l'accumulation d'un parasite en terme de virulence est pour le moment loin d'être généralisable et semble dépendre des modèles considérés (Pagan, Alonso-Blanco, and Garcia-Arenal 2007). Nos résultats permettront de tester cette hypothèse dans le cas de bégomovirus.

La corrélation entre accumulation virale et transmissibilité mérite également d'être validé. Nos premiers résultats avec les virus parentaux montrent que pour des accumulations équivalentes en virus, le TYLCV serait transmis beaucoup plus efficacement que le ToLCYTV avec une population de *B. tabaci* d'origine méditerranéenne. Pour déterminer la raison de cette différence d'efficacité de transmission, le test devra être renouvelé avec une population provenant de l'aire d'origine du ToLCYTV (Océan Indien). Il n'est pas impossible que virus et vecteur se soient localement co-adaptés (Maruthi et al. 2002).

La confrontation des données moléculaires et phénotypiques permettra de tester les hypothèses du schéma (niveau intra gène) et de la complexité (niveau inter-gène). Au niveau de l'hypothèse du schéma nous vérifierons si les modifications moléculaires intra géniques qui entraînent une baisse de la valeur sélective sont liés à une perturbation de la structure tridimensionnelle des protéines. Nous nous limiterons aux perturbations engendrées au niveau de la Rep et de la CP, les deux seules protéines pour lesquelles une structure 3D est disponible. Au niveau de l'hypothèse de la complexité, nous vérifierons si les structures modulaires précédemment décrites (Delatte, Martin et al. 2005) sont cohérentes avec les résultats de fitness obtenus pour chacun des recombinants. Ces travaux permettront de détecter des relation épistatiques par des approches de type QTL (quantitative trait loci) pour chacune des caractéristiques phénotypiques étudiées, accumulation virale, virulence, efficacité de transmission et gamme d'hôte.

Grâce à une collaboration établie depuis plusieurs années avec l'ENA de Meknès au Maroc, nous aurons l'occasion de confronter nos résultats expérimentaux avec une estimation de

l'émergence de recombinants en conditions réelles du champ. Les deux begomovirus, le TYLCV et le TYLCSV, qui ont naturellement généré par recombinaison les deux nouvelles espèces en Espagne (voir ci-dessus), sont également présentes au Maroc (Tahiri et al. 2006). Des prospections dans le nord-est du Maroc nous ont d'ores et déjà permis d'échantillonner des plantes cultivées ou sauvages co-infectées par ces deux virus. Sur cette base mais aussi sur un nouvel échantillonnage ciblé sur des champs de tomate où les deux virus ont été précédemment détecté en co-infection, nous rechercherons si des recombinants sont fréquemment détectés dans des plantes naturellement co-infectées au champ.

3.3 Conclusion générale

Partant d'une problématique agronomique telle que l'émergence, le projet que je propose permettra non seulement d'évaluer le risque et les conditions d'une émergence d'un groupe de virus économiquement important, mais également de répondre à quelques questions plus fondamentales concernant l'évolution des virus.

D'un point de vue agronomique nous devrions pouvoir estimer le risque encouru en cas de rapprochement de souches ou d'espèces de géminivirus infectant une même espèce hôte mais ayant divergé par isolement géographique. Du fait de la circulation des personnes et des échanges commerciaux entre La Réunion et les îles voisines, la rencontre du TYLCV accidentellement introduit à La Réunion et les begomovirus indigènes des îles du Sud Ouest de l'Océan Indien, présente un risque fort. Les résultats attendus dans ce projet auront une valeur prédictive des conséquences d'un tel risque. Les flux de gènes entre des représentants de ces deux groupes génétiques produisent ils fréquemment des recombinants avec un potentiel d'émergence et un impact économique fort ? D'un point de vue pratique et grâce à une collaboration de nos collègues de La Réunion (UMR PVBMT) avec des sociétés semencières, nous envisageons d'exposer les variétés les plus prometteuses pour la lutte contre les begomovirus, à nos recombinants les plus virulents. Nous inaugurerons ainsi un nouveau concept de sélection de résistance par anticipation, en exposant les lignées en cours de sélection à des variants potentiellement émergents.

Sur un plan fondamental, ce projet fournira une première estimation de l'impact phénotypique de la recombinaison aléatoire entre deux espèces virales. Une telle estimation n'a jamais été obtenue pour aucun virus. Dans la limite de nos possibilités pratiques d'estimation de la valeur sélective, la banque de recombinants estimés à des milliers ne sera pas le facteur limitant, nous devrions pourvoir confirmer et affiner les relations d'épistasie au sein du génome des géminivirus par des analyses de type QTL. Par ailleurs, ce projet permettra de préciser les conditions d'émergence de recombinants en relation avec le taux de co-infection cellulaire et la transmission par vecteur.

3.4 Références bibliographiques citées dans les chapitres 2 et 3

- Alberter, B., M. A. Rezaian, and H. Jeske. 2005. Replicative intermediates of Tomato leaf curl virus and its satellite DNAs. *Virology* 331 (2):441-448.
- Ammar, E. D., D. Gargani, J. M. Lett, and M. Peterschmitt. 2009. Large accumulations of maize streak virus in the filter chamber and midgut cells of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology* 154 (2):255-262.
- Ammar, E. D., E. A. Khelifa, A. Mahmoud, S. E. Abol-Ela, and M. Peterschmitt. 2007. Evidence for multiplication of the leafhopper-borne maize yellow stripe virus in its vector using ELISA and dot-blot hybridization. *Archives of Virology* 152 (3):489-494.
- Ammar, E.D., and M. Peterschmitt. 2004. Maize yellow stripe. In *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*, edited by H. Lapiere and P.-A. Signoret. Versailles, France: INRA Editions.

- Ammar, E.D., R.E. Gingery, D.T. Gordon, and A.E. Aboul-Ata. 1990. Tubular helical structures and fine filaments associated with the leafhopper-borne maize yellow stripe virus. *Phytopathology* 80:303-309.
- Anderson, J. P., R. Daifuku, and L. A. Loeb. 2004. Viral error catastrophe by mutagenic nucleosides. *Annual Review of Microbiology* 58:183-205.
- Ascencio-Ibanez, Jose Trinidad, Rosangela Sozzani, Tae-Jin Lee, Tzu-Ming Chu, Russell D. Wolfinger, Rino Cella, and Linda Hanley-Bowdoin. 2008. Global Analysis of Arabidopsis Gene Expression Uncovers a Complex Array of Changes Impacting Pathogen Response and Cell Cycle during Geminivirus Infection. *Plant Physiol.* 148 (1):436-454.
- Bigarre, L., M. Salah, M. Granier, R. Frutos, J. C. Thouvenel, and M. Peterschmitt. 1999. Nucleotide sequence evidence for three distinct sugarcane streak mastreviruses. *Archives of Virology* 144 (12):2331-2344.
- Bigarre, L., M. Chazly, M. Salah, M. Ibrahim, M. Padidam, M. Nicole, M. Peterschmitt, C. Fauquet, and J.C. Thouvenel. 2001. Characterization of a new begomovirus from Egypt infecting hollyhock (*Althea rosea*). *European Journal of Plant Pathology* 107 (7):701-711.
- Bigarré, L. 1994. Localisation *in situ* du maïs streak virus (MSV) dans un maïs hybride sensible et une lignée résistante. Master dissertation, Université Paris VI.
- . 1999. Diversité des géminivirus et interactions avec leurs hôtes. Thèse de Doctorat.
- Bock, K.R., E.J. Guthrie, and R.D. Woods. 1974. Purification of maize streak virus and its relationship to viruses associated with streak diseases of sugar cane and *Panicum maximum*. *Annals of Applied Biology* 77:289-296.
- Briddon, R.W., P. Lunness, L.C.L. Chamberlin, and P.G. Markham. 1994. Analysis of the genetic variability of maize streak virus. *Virus Genes* 9 (1):93-100.
- Brough, C.L., W.E. Gardiner, N.M. inamdar, X._Y. Zhang, M. Ehrlich, and D.M. Bisaro 1992. DNA methylation inhibits propagation of tomato golden mosaic virus DNA in transfected protoplasts. *Plant Molecular Biology* 18:703-712.
- Caciagli, P., V. Medina, D. Marian, M. Vecchiati, V. Masenga, G. Mason, T. Falcioni, and E. Noris. 2009. Virion stability is important for the circulative transmission of Tomato yellow leaf curl Sardinia virus by Bemisia tabaci, but virion access to salivary glands does not guarantee transmissibility. *Journal of Virology* doi:10.1128/JVI.02267-08.
- Casado, C. G., G. J. Ortiz, E. Padron, S. J. Bean, R. McKenna, M. Agbandje-McKenna, and M. I. Boulton. 2004. Isolation and characterization of subgenomic DNAs encapsidated in "single" T=1 isometric particles of Maize streak virus. *Virology* 323 (1):164-171.
- Czosnek, H., M. Ghanim, S. Morin, G. Rubinstein, V. Fridman, and M. Zeidan. 2001. Whiteflies: Vectors, and victims (?), of geminiviruses. In *Advances in Virus Research, Vol 57*, edited by K. Maramorosch, F. A. Murphy and A. J. Shatkin. 525 B Street/ Suite 1900/San Diego/CA 92101-4495/USA: Academic Press Inc.
- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, H. Delatte, and M. Peterschmitt. 2008. Genetic structure of the invasive pest Bemisia tabaci: evidence of limited but persistent genetic differentiation in glasshouse populations. *Heredity* 100 (3):316-325.
- Dalmon, A., M. Peterschmitt, M. Cailly, O. Dufour, M. Jeay, and A Baguet. 2000. La maladie de feuilles jaunes en cuillère de la tomate. Une grave virose due au TYLCV, introduite accidentellement en France. *Phytoma* 527:10-13.
- Dekker, E.L. , M.S. Pinner, P.G. Markham, and M.H.V. Van Regenmortel. 1988. Characterisation of MSV isolates from different plant species by polyclonal and monoclonal antibodies. *Journal of General Virology* 69:983-990.
- Delatte, H., J.M. Lett, P. Lefeuvre, B. Reynaud, and M. Peterschmitt. 2007. An insular environment before and after TYLCV introduction. In *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, molecular biology, breeding for resistance*, edited by H. Czosnek. Dordrecht, The Netherlands: Springer
- Delatte, H., H. Holota, F. Naze, M. Peterschmitt, B. Reynaud, and J. M. Lett. 2005. The presence of both recombinant and nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Reunion Island. *Plant Pathology* 54 (2):262-262.
- Delatte, H., H. Holota, B. Moury, B. Reynaud, J. M. Lett, and M. Peterschmitt. 2007. Evidence for a founder effect after introduction of Tomato yellow leaf curl virus-Mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution* 65 (1):112-118.
- Delatte, H., B. Reynaud, J. M. Lett, M. Peterschmitt, M. Granier, J. Ravololonandrianina, and R. Goldbach. 2002. First molecular identification of a begomovirus isolated from tomato in Madagascar. *Plant Disease* 86:1404.
- Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J. M. Lett, R. Goldbach, and M. Peterschmitt. 2005. A new silverleaf-inducing biotype Ms of Bemisia tabaci (Hemiptera : Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95 (1):29-35.

- Delatte, H., D. P. Martin, F. Naze, R. Goldbach, B. Reynaud, M. Peterschmitt, and J. M. Lett. 2005. South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology* 86:1533-1542.
- Delatte, H., P. David, M. Granier, J. M. Lett, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud. 2006. Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetical Research* 87 (2):109-124.
- Delatte, H., A. Dalmon, D. Rist, I. Soustrade, G. Wuster, J. M. Lett, R. W. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud. 2003. Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by Bemisia tabaci (Gennadius) from tomato fruit. *Plant Disease* 87 (11):1297-1300.
- Desbiez, C., H. Lecoq, S. Aboulama, and M. Peterschmitt. 2000. First report of Cucurbit yellow stunting disorder virus in Morocco. *Plant Disease* 84:596.
- Drake, J. W., and J. J. Holland. 1999. Mutation rates among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (24):13910-13913.
- Drake, J. W., B. Charlesworth, D. Charlesworth, and J. F. Crow. 1998. Rates of spontaneous mutation. *Genetics* 148 (4):1667-1686.
- Drake, J.W. 1993. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:4171-4175.
- Duffy, S., and E.C. Holmes. 2008. Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology* 82 (2):957-65.
- Elena, S. F., and R. Sanjuan. 2007. Virus evolution: Insights from an experimental approach. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 38:27-52.
- Etessami, P., J. Watts, and J. Stanley. 1989. Size reversion of African cassava mosaic virus coat protein gene deletion mutants during infection of Nicotiana benthamania. *Journal of General Virology* 70:277-289.
- Fargette, D., G. Konate, C. Fauquet, E. Muller, M. Peterschmitt, and J. M. Thresh. 2006. Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 44:235-260.
- Frischmuth, T., M. Ringel, and C. Kocher. 2001. The size of encapsidated single-stranded DNA determines the multiplicity of African cassava mosaic virus particles. *Journal of General Virology* 82:673-676.
- Fuller, C. 1901. Mealie variegation. *First report of the government entomologist, Natal*:17-19.
- Furio, V., A. Moya, and R. Sanjuan. 2005. The cost of replication fidelity in an RNA virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (29):10233-10237.
- Garcia-Andres, S., F. Monci, J. Navas-Castillo, and E. Moriones. 2006. Begomovirus genetic diversity in the native plant reservoir Solanum nigrum: Evidence for the presence of a new virus species of recombinant nature. *Virology* 350 (2):433-442.
- Garcia-Andres, S., D. M. Tomas, S. Sanchez-Campos, J. Navas-Castillo, and E. Moriones. 2007. Frequent occurrence of recombinants in mixed infections of tomato yellow leaf curl disease-associated begomoviruses. *Virology* 365 (1):210-219.
- Garcia-Arenal, F., A. Fraile, and J.M. Malpica. 2001. Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annual Review of Phytopathology* 39:157-186.
- Gardiner, W.E., G. Sunter, I. Brand, J.S. Elmer, S.G. Rogers, and D.M. Bisaro. 1988. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus: the coat protein is not required for systemic spread or symptom development. *EMBO* 7:899-904.
- Gilbertson, R. L., M. Sudarshana, H. Jiang, M. R. Rojas, and W. J. Lucas. 2003. Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: Insights into DNA trafficking. *Plant Cell* 15 (11):2578-2591.
- Gutierrez, C. 2002. Strategies for geminivirus DNA replication and cell cycle interference. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60 (5):219-230.
- Heyraud-Nitschke, F., S. Schumacher, J. Laufs, S. Schaefer, J. Schell, and B. Gronenborn. 1995. Determination of the origin cleavage and joining domain of geminivirus Rep proteins. *Nucleic Acids Res* 23 (6):910-916.
- Hughes, F.L., E.P. Rybicki, and R. Kirby. 1993. Complete nucleotide sequence of sugarcane streak Monogeminivirus. *Archives of Virology* 132 (1-2):171-182.
- Inamdar, N. M., X. Y. Zhang, C. L. Brough, W. E. Gardiner, D. M. Bisaro, and M. Ehrlich. 1992. Transfection of heteroduplexes containing uracil-guanine or thymine-guanine mispairs into plant cells. *Plant Molecular Biology* 20 (1):123-131.
- Isnard, M., M. Granier, R. Frutos, B. Reynaud, and M. Peterschmitt. 1998. Quasispecies nature of three maize streak virus isolates obtained through different modes of selection from a population used to assess response to infection of maize cultivars. *Journal of General Virology* 79:3091-3099.
- Jeske, H., M. Lutgemeier, and W. Preiss. 2001. DNA forms indicate rolling circle and recombination-dependent replication of Abutilon mosaic virus. *EMBO Journal* 20 (21):6158-6167.

- Johnson, T., and N. H. Barton. 2002. The effect of deleterious alleles on adaptation in asexual populations. *Genetics* 162 (1):395-411.
- Kimmins, F. M., and N. A. Bosque-Perez. 1996. Electrical penetration graphs from *Cicadulina* spp. and the inoculation of a persistent virus into maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80:46-49.
- Klinkenberg, F.A., S. Ellwood, and J. Stanley. 1989. Fate of african cassava mosaic virus coat protein deletion mutants after agroinoculation. *Journal of General Virology* 70:1837-1844.
- Koonin, E. V., and T. V. Ilyina. 1992. Geminivirus replication proteins are related to prokaryotic plasmid rolling circle DNA-replication initiator proteins. *Journal of General Virology* 73:2763-2766.
- Lefevre, P., J. M. Lett, B. Reynaud, and D. P. Martin. 2007. Avoidance of protein fold disruption in natural virus recombinants. *Plos Pathogens* 3 (11):1782-1789.
- Lett, J. M., H. Delatte, F. Naze, B. Reynaud, A.L. Abdoul-Karime, and M. Peterschmitt. 2004. A new tomato leaf curl virus from Mayotte. *Plant Disease* 88:681.
- Lett, J.M., M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Molinaro, F. Chiroleu, M. Peterschmitt, and B. Reynaud. 2001. Electrical penetration graphs from *Cicadulina* mbila on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101 (2):93-109.
- Lett, J.M., M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud, and M. Peterschmitt. 2002. Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* 92 (1):65-74.
- Liu, H., M.I. Boulton, C.L. Thomas, D.A.M. Prior, K.J. Oparka, and J.W. Davies. 1999. Maize streak virus coat protein is karyophilic and facilitates nuclear transport of viral DNA. *Molecular Plant Microbe Interactions* 12 (10):894-900.
- Mahmoud, A., M. Royer, M. Granier, E. D. Ammar, J. C. Thouvenel, and M. Peterschmitt. 2007. Evidence for a segmented genome and partial nucleotide sequences of maize yellow stripe virus, a proposed new tenuivirus. *Archives of Virology* 152 (9):1757-1762.
- Malpica, J. M., A. Fraile, I. Moreno, C. I. Obies, J. W. Drake, and F. Garcia-Arenal. 2002. The rate and character of spontaneous mutation in an RNA virus. *Genetics* 162 (4):1505-1511.
- Markham, P.G., M.S. Pinner, T. Mesfin, S. Nebbache, R. Briddon, and V. Medina. 1988. Geminiviruses, and their interaction with vectors. *Annual report 1988 of the John Innes Institute*:63-67.
- Maruthi, M.N., J. Colvin, S. Seal, G. Gibson, and J. Cooper. 2002. Co-adaptation between cassava mosaic geminiviruses and their local vector populations. *Virus Research* 86 (1-2):71-85.
- Monci, F., S. Sanchez-Campos, J. Navas-Castillo, and E. Moriones. 2002. A natural recombinant between the geminiviruses Tomato yellow leaf curl Sardinia virus and Tomato yellow leaf curl virus exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. *Virology* 303 (2):317-326.
- Morilla, G., B. Krenz, H. Jeske, E. R. Bejarano, and C. Wege. 2004. Tete a tete of tomato yellow leaf curl virus and Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in single nuclei. *Journal of Virology* 78 (19):10715-10723.
- Mosig, G. 1998. Recombination and recombination-dependent DNA replication in bacteriophage T4. *Annual Review of Genetics* 32:379-413.
- Orr, H. A. 2000. The rate of adaptation in asexuals. *Genetics* 155 (2):961-968.
- Padidam, M., S. Sawyer, and C.M. Fauquet. 1999. Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265 (2):218-225.
- Pagan, Israel, Carlos Alonso-Blanco, and Fernando Garcia-Arenal. 2007. The relationship of within-host multiplication and virulence in a plant-virus system. *PLoS ONE* 2 (8):e786.
- Peterschmitt, M., M. Granier, R. Frutos, and B. Reynaud. 1996. Infectivity and complete nucleotide sequence of the genome of a genetically distinct strain of maize streak virus from Reunion Island. *Archives of Virology* 141 (9):1637-1650.
- Peterschmitt, M. 1983. Détection et élimination de virus infectant des clones africains et américains de manioc. DEA, Paris XI, Orsay.
- . 2004. Maize streak diseases. In *Viruses and virus diseases of Poaceae*, edited by H. Lapierre and P. A. Signoret. Versailles: INRA Editions.
- Peterschmitt, M., M. Granier, and S. Aboulama. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl geminivirus in Morocco. *Plant Disease* 83:1074.
- Peterschmitt, M., J. B. Quiot, B. Reynaud, and P. Baudin. 1992. Detection of maize streak virus antigens overtime in different parts of maize plants of a sensitive and a so-called tolerant cultivar by ELISA. *Annals of Applied Biology* 121 (3):641-653.
- Peterschmitt, M., A.S. Ratna, W.R. Sacks, D.V.R. Reddy, and L.K. Mughogho. 1991. Occurrence of an isolate of maize stripe virus on sorghum in India. *Annals of Applied Biology* 118:57-70.
- Peterschmitt, M., M. Granier, R. Mekdoud, A. Dalmon, O. Gambin, J.F. Vayssieres, and B. Reynaud. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl virus in Réunion Island. *Plant Disease* 83:303.

- Peterschmitt, M. , B. Reynaud, G. Sommermeyer, and P. Baudin. 1991. Characterization of MSV isolates using monoclonal and polyclonal antibodies and by transmission to a few hosts. *Plant Disease* 75:27-32.
- Pinner, M.S., and P.G. Markham. 1990. Serotyping and strain identification of maize streak virus isolates. *Journal of General Virology* 71:1635-1640.
- Pita, J.S., V.N. Fondong, A. Sangare, G.W. OtimNape, S. Ogwal, and C.M. Fauquet. 2001. Recombination, pseudorecombination and synergism of geminiviruses are determinant keys to the epidemic of severe cassava mosaic disease in Uganda. *Journal of General Virology* 82:655-665.
- Reynaud, B. , and M. Peterschmitt. 1992. A study of the mode of transmission of MSV by *Cicadulina mbila* using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Annals of Applied Biology* 121:85-94.
- Rojas, M.R., A.O. Noueiry, W.J. Lucas, and R.L. Gilbertson. 1998. Bean dwarf mosaic geminivirus movement proteins recognize DNA in a form- and size-specific manner. *Cell* 95 (1):105-113.
- Sanjuan, R., A. Moya, and S. F. Elena. 2004. The distribution of fitness effects caused by single-nucleotide substitutions in an RNA virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (22):8396-8401.
- Sanz, A.I., A. Fraile, F. GarciaArenal, X.P. Zhou, D.J. Robinson, S. Khalid, T. Butt, and B.D. Harrison. 2000. Multiple infection, recombination and genome relationships among begomovirus isolates found in cotton and other plants in Pakistan. *Journal of General Virology* 81:1839-1849.
- Saunders, K., A. Lucy, and J. Stanley. 1991. DNA forms of the geminivirus African cassava mosaic virus consistent with a rolling circle mechanisms of replication. *Nucleic Acids Research* 19 (9):2325-2330.
- Schneider, W.L., and M.J. Roossinck. 2000. Evolutionarily related Sindbis-like plant viruses maintain different levels of population diversity in a common host. *Journal of Virology* 74 (7):3130-3134.
- . 2001. Genetic diversity in RNA virus quasispecies is controlled by host-virus interactions. *Journal of Virology* 75 (14):6566-6571.
- Shackelton, L. A., and E. C. Holmes. 2006. Phylogenetic evidence for the rapid evolution of human B19 erythrovirus. *Journal of Virology* 80 (7):3666-3669.
- Shackelton, L. A., C. R. Parrish, U. Truyen, and E. C. Holmes. 2005. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (2):379-384.
- Sierra, S., M. Davila, P. R. Lowenstein, and E. Domingo. 2000. Response of foot-and-mouth disease virus to increased mutagenesis: Influence of viral load and fitness in loss of infectivity. *Journal of Virology* 74 (18):8316-8323.
- Stanley, J. 1985. The molecular biology of geminiviruses. *Advances in Virus Research* 30:139-177.
- Stanley, J., K. Saunders, M.S. Pinner, and S. Man Wong. 1997. Novel defective interfering DNAs associated with ageratum yellow vein geminivirus infection of *Ageratum conyzoides*. *Virology* 239:87-96.
- Steinhauer, D. A., E. Domingo, and J. J. Holland. 1992. Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase. *Gene* 122 (2):281-288.
- Stenger, D.C., G.N. Revington, M.C. Stevenson, and D.M. Bisaro. 1991. Replicational release of geminivirus genomes from tandemly repeated copies : Evidence for rolling-circle replication of a plant viral DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88:8029-8033.
- Storey, H.H. 1928. Transmission studies of maize streak disease. *Annals of Applied Biology* 15 (1):1-25.
- . 1932. The filtration of the virus of streak disease of maize. *Annals of Applied Biology* 19 (1):1-5.
- Tahiri, A., A. Sekkat, A. Bennani, M. Granier, G. Delvare, and M. Peterschmitt. 2006. Distribution of tomato-infecting begomoviruses and Bemisia tabaci biotypes in Morocco. *Annals of Applied Biology* 149 (2):175-186.
- Urbino, C., G. Thebaud, M. Granier, S. Blanc, and M. Peterschmitt. 2008. A novel cloning strategy for isolating, genotyping and phenotyping genetic variants of geminiviruses. *Virology Journal* 5:10.
- Urbino, C., M. Granier, J.L. Macia, R. Froissart, S. Blanc, and M. Peterschmitt. 2007. Fréquence de mutation et production de molécules défectives chez le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) Paper read at 11 èmes Rencontres de virologie végétale, 28 janvier au 1er février 2007, at Aussois, France.
- Varsani, A., D. N. Shepherd, A. L. Monjane, B. E. Owor, J. B. Erdmann, E. P. Rybicki, M. Peterschmitt, R. W. Briddon, P. G. Markham, S. Oluwafemi, O. P. Windram, P. Lefeuvre, J. M. Lett, and D. P. Martin. 2008. Recombination, decreased host specificity and increased mobility may have driven the emergence of maize streak virus as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology* 89:2063-2074.
- Vignuzzi, M., J. K. Stone, J. J. Arnold, C. E. Cameron, and R. Andino. 2006. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439 (7074):344-348.
- Zhang, W., N.H. Olson, T.S. Baker, L. Faulkner, M. AgbandjeMcKenna, M.I. Boulton, J.W. Davies, and R. McKenna. 2001. Structure of the maize streak virus geminate particle. *Virology* 279 (2):471-477.

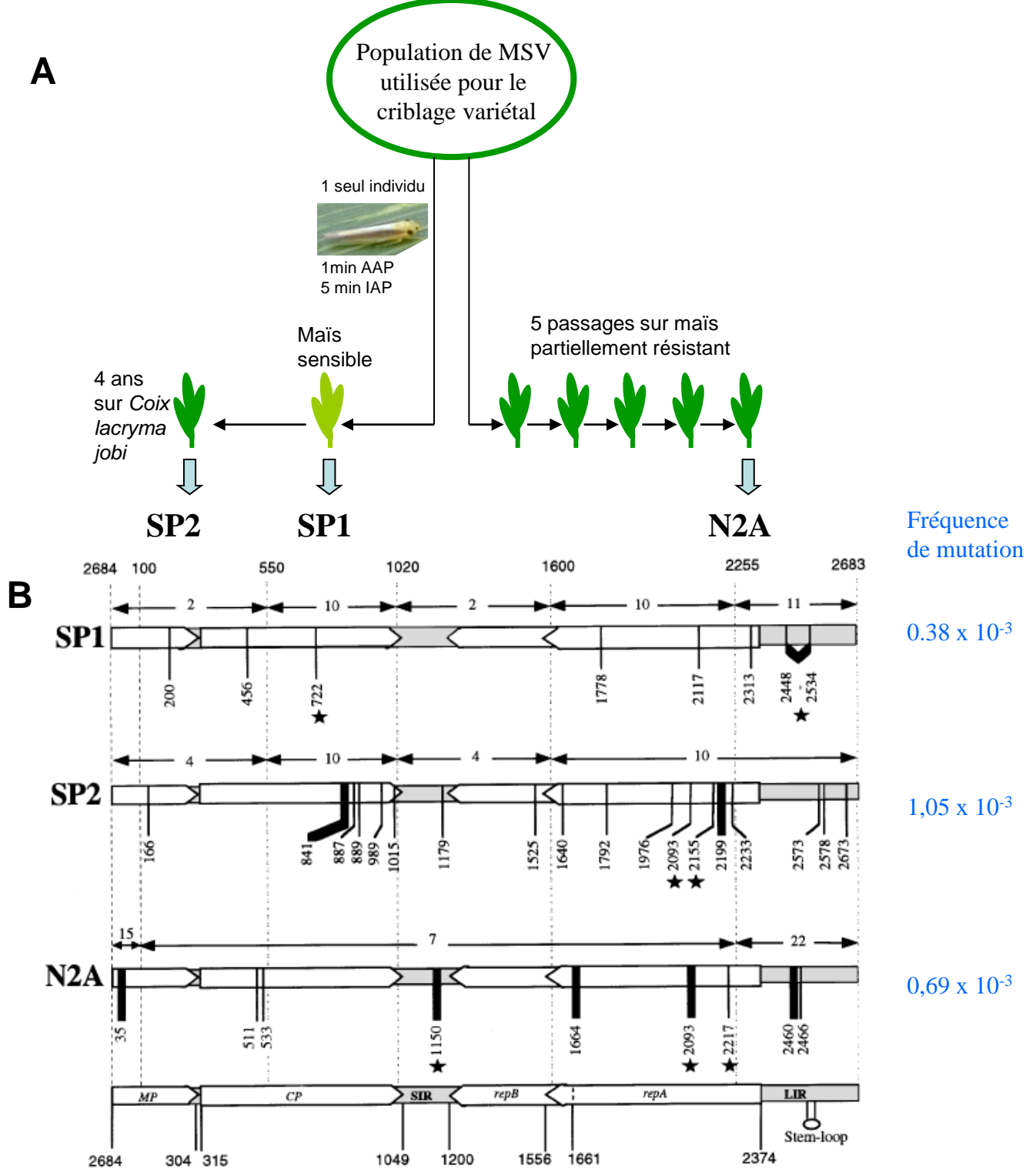


Figure 10: Obtention (A) et caractérisation (B) de 3 isolats de Maize streak virus (MSV) dérivés d'une population virale de la Réunion qui servait à cribler les variétés de maïs en sélection. Les génomes consensus des 3 isolats sont représentés sous forme linéaire et les positions sont numérotées à partir du site unique de restriction *Bam*HI. Le nombre de clones séquencés pour chaque région et chaque isolat est indiqué au dessus de chaque consensus. Les mutations détectées sur un seul clone sont indiquées avec une ligne verticale fine et celles qui ont été détectées sur plus d'un clone avec une ligne verticale épaisse. La flèche épaisse sous la séquence consensus de SP1 correspond à une délétion de 38 paires de base. Les étoiles indiquent des mutations qui ont induit un changement dans les profils RFLP. Les gènes codés par le génome du MSV sont représentés au bas de la figure

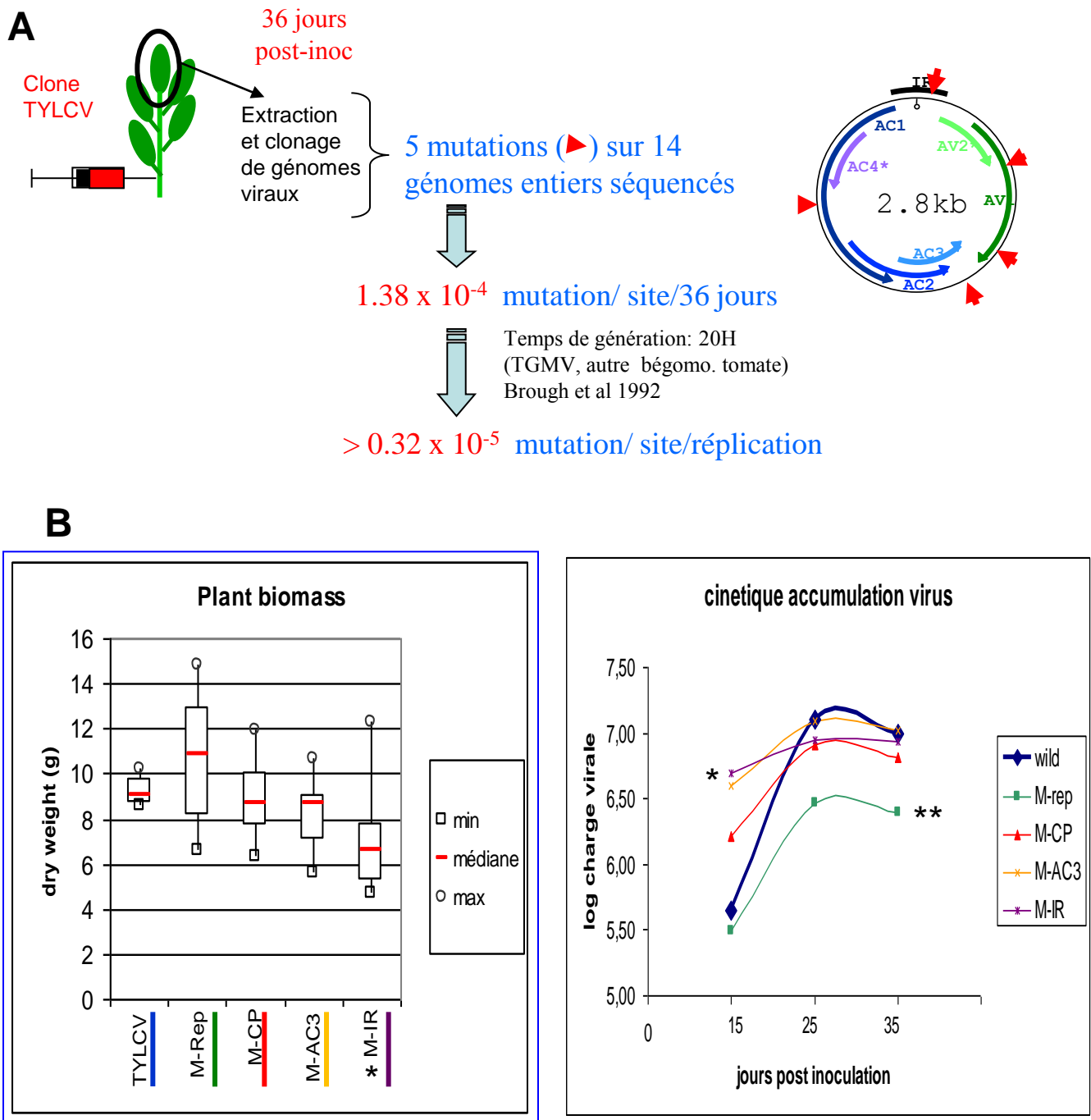


Figure 11: Estimation du taux de mutation du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) et évaluation du phénotype de mutants apparus au cours d'un cycle d'infection dans une plante. (A) Le taux de mutation du TYLCV a été estimé sur la base de la fréquence de mutations détectées sur des clones viraux issus d'une plante infectée par un clone infectieux de TYLCV et à l'aide d'un temps de génération déterminé par d'autre sur un bégomovirus de la tomate, le Tomato golden mosaic virus (TGMV). (B) Quatre des mutants obtenus lors d'un cycle d'infection dans une plante (A) sont testés pour leur virulence, estimée par mesure de la réduction du poids sec de la plante, et pour leur valeur sélective, estimée par l'accumulation virale dans la plante (qPCR). Chaque mutant testé diffère du clone parental TYLCV par une seule mutation. Par exemple, le mutant M-Rep diffère du clone parental TYLCV par une mutation dans le gène codant pour la Rep. Différence significative avec le clone parental à 0,05%* et 0,01%**

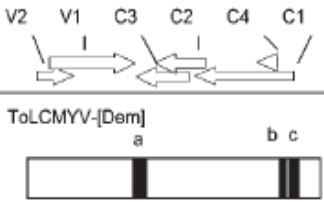
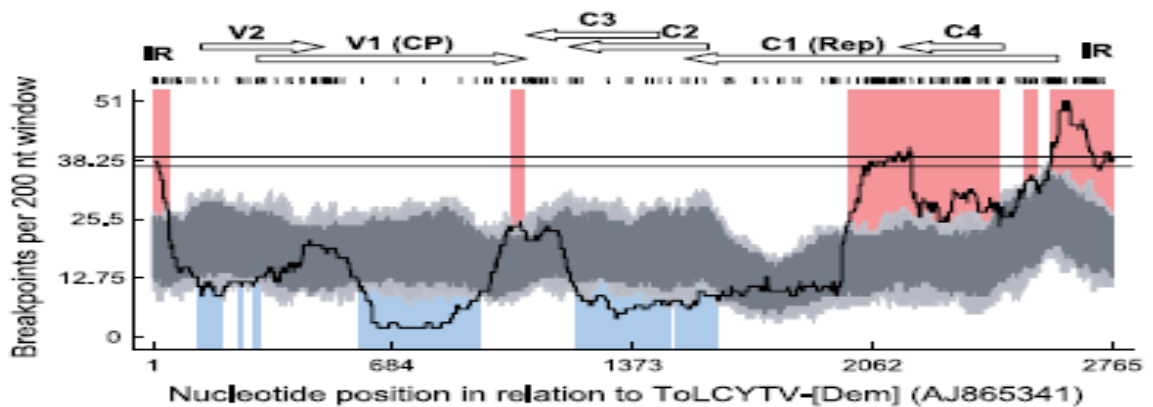
				Parental sequences		Detected by	P-value
		Event	Region	Minor	Major		
		a	1055–1192	~ToLCV	~Tol	rbC	7.5×10^{-3}
		b	2529–2599	Tol	Kah	RBCS	5.1×10^{-4}
		c	2602–2724	Mor	Kah	RGBMCS	1.7×10^{-10}
ToLCMYV-[Kah]		a	1055–1192	~ToLCV	~Tol	rbC	7.5×10^{-3}
		b	1748–1777	Unknown	Dem	RgB	9.4×10^{-4}
		c	2524–2848	Unknown	Dem	RGBMCS	6.0×10^{-15}
		d	2620–2653	~ACMV	Dem	RGBMCS	3.9×10^{-10}
		e	2654–2684	Mor	Dem	RGBS	4.3×10^{-4}
ToLCMGV-[Mor]		a	1661–2068	Unknown	~Dem	MC	1.2×10^{-4}
		b	2288–2370	Unknown	Tol	RGBM	1.2×10^{-4}
		c	2529–2599	Unknown	Tol	RS	7.5×10^{-3}
		d	2650–2710	~ChaYMV	Tol	RGBs	1.1×10^{-12}
		e	2716–2854	Unknown	Tol	RGBMCS	2.9×10^{-27}
ToLCMGV-[Tol]		a	2074–2155	Dem	Mor	GBMS	2.3×10^{-8}
		b	164–574	Unknown	~Dem	rbMC	1.6×10^{-3}
		c	1504–2149	Unknown	Kah	MC	1.8×10^{-5}
		d	2377–2440	~ToLCV	Mor	RGB	2.0×10^{-4}

Figure 12: Régions recombinantes détectées dans des séquences de bégomovirus de la tomate isolés sur les îles du Sud Ouest de l’Océan Indien. Les régions potentiellement recombinantes ont été recherchées avec 6 méthodes distinctes, RDP (R), GENECONV (G), BOOTSCAN (B) MAXIMUM χ^2 (M), CHIMAERA (C), et SISTER SCAN (S) disponibles dans le logiciel RDP2 (Martin et al., 2005, Bioinformatics 21, 260–262). Les abréviations des méthodes sont indiquées en majuscule quand la *P*-value calculée est $< 0,01$, et en minuscule quand la *P*-value est $< 0,05$ mais $\geq 0,01$. La *P*-value est donnée en dernière colonne pour la méthode dont l’abréviation est en gras et pour laquelle la meilleure *P*-value a été calculée. Quatre souches virales ont été analysées: les souches Morondova (Mor) et Toliary (Tol) de l’espèce Tomato leaf curl Madagascar virus-(ToLCMGV) et les souches Dembeni (Dem) et Kahani (Kah) de l’espèce Tomato leaf curl Mayotte virus (ToLCYTV).



Lefeuvre et al. 2007, Plos Pathogens 3, 1784 (Figure 2B)

Figure 13: Distribution des points de recombinaison détectés parmi les génomes des begomovirus monopartites disponibles dans les banques et notamment des 2 génomes parentaux utilisé pour le projet recombinaison, le Tomato yellow leaf curl virus et le Tomato leaf curl Mayotte virus (ToLCYTV). Tous les points de recombinaison estimés ont été représentés par de courtes lignes verticale au sommet de la figure. Une fenêtre de 200 nucléotide a été déplacé le long des alignements par pas de 1 nucléotide et le nombre de points de recombinaison détectés dans chacune des fenêtres a servi à tracer la courbe noire. Le tracé de cette ligne permet de détecter les régions riches en point de recombinaison, appelés hot spots, et celle qui sont pauvres en recombinaison, appelées cold spots.

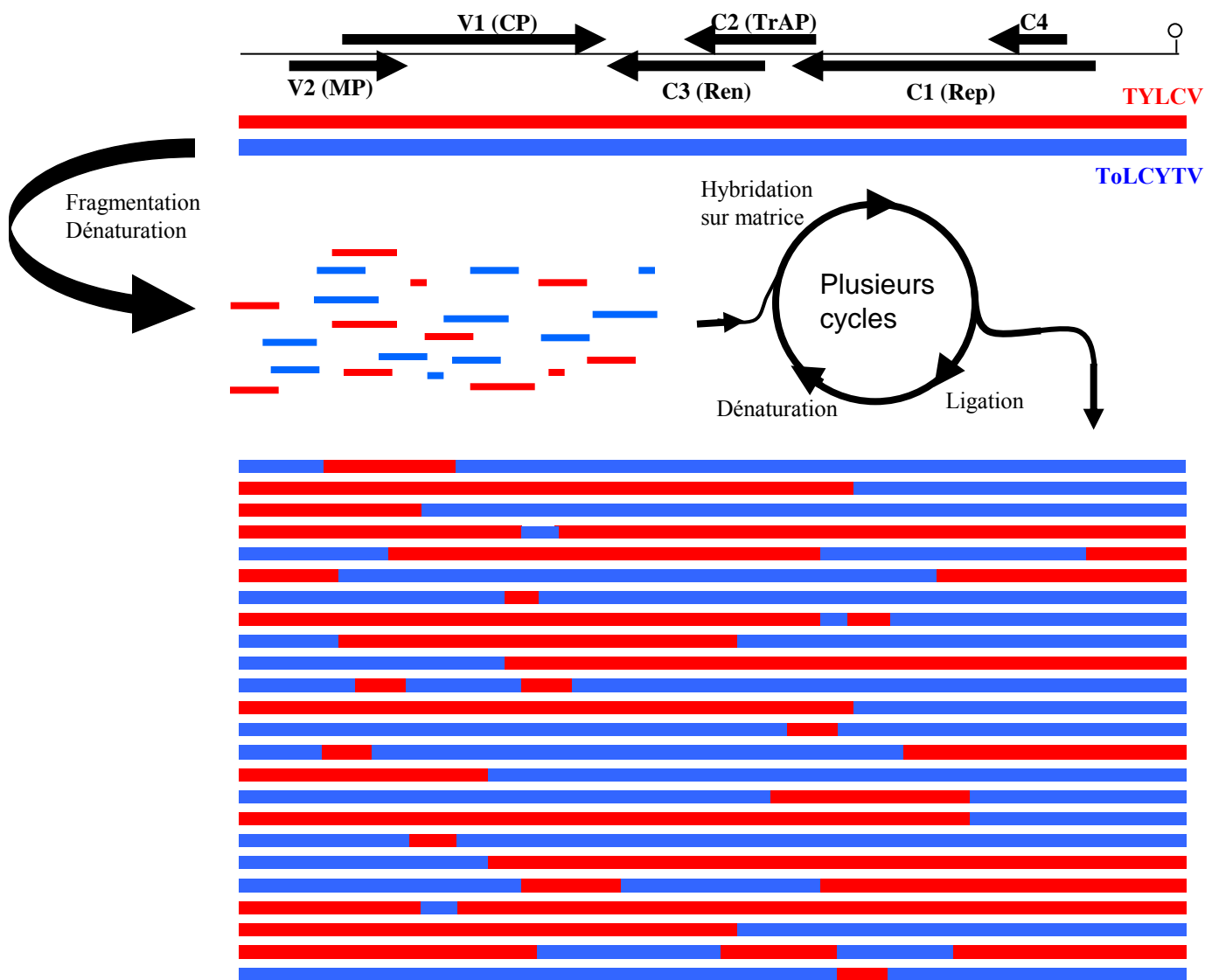


Figure 14: Création d'un banque de recombinants par la technique du L-Shufflings (Protéus Nîmes) à partir des génomes du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) et du Tomato leaf curl Mayotte virus (ToLCYTV). Les génomes parentaux et recombinants sont représentés sous une forme linéarisée à partir d'un site unique de restriction (*Xho*I). Ce site a été créé sur les 2 génomes parentaux pour faciliter le test phénotypique des recombinants sur plante en utilisant le vecteur créé au laboratoire et dans le quel les génomes recombinants ont été insérés (voir texte). Les gènes codés par le TYLCV et le ToLCYTV sont représentés au sommet de la figure. Le gène V1 code pour la CP, V2 pour une protéine de mouvement (MP), C1 pour une protéine impliqué dans la réplication (Rep), C2 pour une protéine activatrice de la transcription (Trap), C3 pour une protéine qui stimule la réplication (Ren), et C4 code pour une protéine qui est impliqué dans le contrôle du cycle cellulaire. La ligne verticale surmontée d'un cercle représente une tige boucle au sommet de laquelle a été identifiée l'origine de réplication.

**CHAPITRE 4 :
PUBLICATIONS
SCIENTIFIQUES**

4.1 Mémoires

- 1- **Peterschmitt, M.** 1983. Détection et élimination de virus infectant des clones africains et américains de manioc. DEA, Paris-Sud 11, Orsay.
- 2- **Peterschmitt, M.** 1988. Identification sérologique et dynamique du Maize streak virus dans le maïs et dans le vecteur *Cicadulina mbila*. Thèse, Paris-Sud 11, Orsay.

4.2 Articles dans des revues internationales à comité de lecture

- 1- **Peterschmitt, M.**, A.S. Ratna, W.R. Sacks, D.V.R. Reddy, and L.K. Mughogho. 1991. Occurrence of an isolate of maize stripe virus on sorghum in India. *Annals of Applied Biology* 118:57-70.
- 2- **Peterschmitt, M.**, B. Reynaud, G. Sommermeyer, and P. Baudin. 1991. Characterization of MSV isolates using monoclonal and polyclonal antibodies and by transmission to a few hosts. *Plant Disease* 75:27-32.
- 3- **Peterschmitt, M.**, J. B. Quiot, B. Reynaud, and P. Baudin. 1992. Detection of maize streak virus antigens overtime in different parts of maize plants of a sensitive and a so-called tolerant cultivar by ELISA. *Annals of Applied Biology* 121 (3):641-653.
- 4- Reynaud, B., and **M. Peterschmitt**. 1992. A study of the mode of transmission of MSV by *Cicadulina mbila* using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Annals of Applied Biology* 121:85-94.
- 5- **Peterschmitt, M.**, M. Granier, R. Frutos, and B. Reynaud. 1996. Infectivity and complete nucleotide sequence of the genome of a genetically distinct strain of maize streak virus from Reunion Island. *Archives of Virology* 141 (9):1637-1650.
- 6- Isnard, M., M. Granier, R. Frutos, B. Reynaud, and **M. Peterschmitt**. 1998. Quasispecies nature of three maize streak virus isolates obtained through different modes of selection from a population used to assess response to infection of maize cultivars. *Journal of General Virology* 79:3091-3099.
- 7- Bigarre, L., M. Salah, M. Granier, R. Frutos, J. C. Thouvenel, and **M. Peterschmitt**. 1999. Nucleotide sequence evidence for three distinct sugarcane streak mastreviruses. *Archives of Virology* 144 (12):2331-2344.
- 8- **Peterschmitt, M.**, M. Granier, and S. Aboulama. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl geminivirus in Morocco. *Plant Disease* 83:1074.
- 9- **Peterschmitt, M.**, M. Granier, R. Mekdoud, A. Dalmon, O. Gambin, J.F. Vayssieres, and B. Reynaud. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl virus in Réunion Island. *Plant Disease* 83:303.
- 10- Desbiez, C., H. Lecoq, S. Aboulama, and **M. Peterschmitt**. 2000. First report of Cucurbit yellow stunting disorder virus in Morocco. *Plant Disease* 84:596.
- 11- Bigarre, L., M. Chazly, M. Salah, M. Ibrahim, M. Padidam, M. Nicole, **M. Peterschmitt**, C. Fauquet, and J.C. Thouvenel. 2001. Characterization of a new begomovirus from Egypt infecting hollyhock (*Althea rosea*). *European Journal of Plant Pathology* 107 (7):701-711.
- 12- Lett, J.M., M. Granier, M. Grondin, P. Turpin, F. Molinaro, F. Chiroleu, **M. Peterschmitt**, and B. Reynaud. 2001. Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101 (2):93-109.
- 13- Delatte, H., B. Reynaud, J. M. Lett, **M. Peterschmitt**, M. Granier, J. Ravololonandrianina, and R. Goldbach. 2002. First molecular identification of a begomovirus isolated from tomato in Madagascar. *Plant Disease* 86:1404.

- 14- Lett, J.M., M. Granier, I. Hippolyte, M. Grondin, M. Royer, S. Blanc, B. Reynaud, and **M. Peterschmitt**. 2002. Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* 92 (1):65-74.
- 15- Alegria, O.M., M. Royer, M. Bousalem, M. Chatenet, **M. Peterschmitt**, J.C. Girard, and P. Rott. 2003. Genetic diversity in the coat protein coding region of eighty-six sugarcane mosaic virus isolates from eight countries, particularly from Cameroon and Congo. *Archives of Virology* 148 (2):357-372.
- 16- Delatte, H., A. Dalmon, D. Rist, I. Soustrade, G. Wuster, J. M. Lett, R. W. Goldbach, **M. Peterschmitt**, and B. Reynaud. 2003. Tomato yellow leaf curl virus can be acquired and transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) from tomato fruit. *Plant Disease* 87 (11):1297-1300.
- 17- Lett, J. M., H. Delatte, F. Naze, B. Reynaud, A.L. Abdoul-Karime, and **M. Peterschmitt**. 2004. A new tomato leaf curl virus from Mayotte. *Plant Disease* 88:681.
- 18- Sobhian, R., A. McClay, S. Hasan, **M. Peterschmitt**, and R. B. Hughes. 2004. Safety assessment and potential of *Cecidophyes rouhollahi* (Acari, Eriophyidae) for biological control of *Galium spurium* (Rubiaceae) in North America. *Journal of Applied Entomology* 128 (4):258-266.
- 19- Delatte, H., H. Holota, F. Naze, **M. Peterschmitt**, B. Reynaud, and J. M. Lett. 2005. The presence of both recombinant and nonrecombinant strains of Tomato yellow leaf curl virus on tomato in Reunion Island. *Plant Pathology* 54 (2):262.
- 20- Delatte, H., D. P. Martin, F. Naze, R. Goldbach, B. Reynaud, **M. Peterschmitt**, and J. M. Lett. 2005. South West Indian Ocean islands tomato begomovirus populations represent a new major monopartite begomovirus group. *Journal of General Virology* 86:1533-1542.
- 21- Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J. M. Lett, R. Goldbach, and **M. Peterschmitt**. 2005. A new silverleaf-inducing biotype *Ms* of *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95 (1):29-35.
- 22- Delatte, H., P. David, M. Granier, J. M. Lett, R. Goldbach, **M. Peterschmitt**, and B. Reynaud. 2006. Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetical Research* 87 (2):109-124.
- 23- Fargette, D., G. Konate, C. Fauquet, E. Muller, **M. Peterschmitt**, and J. M. Thresh. 2006. Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 44:235-260.
- 24- Tahiri, A., A. Sekkat, A. Bennani, M. Granier, G. Delvare, and **M. Peterschmitt**. 2006. Distribution of tomato-infecting begomoviruses and *Bemisia tabaci* biotypes in Morocco. *Annals of Applied Biology* 149 (2):175-186.
- 25- Ammar, E. D., E. A. Khelifa, A. Mahmoud, S. E. Abol-Ela, and **M. Peterschmitt**. 2007. Evidence for multiplication of the leafhopper-borne maize yellow stripe virus in its vector using ELISA and dot-blot hybridization. *Archives of Virology* 152 (3):489-494.
- 26- Delatte, H., H. Holota, B. Moury, B. Reynaud, J. M. Lett, and **M. Peterschmitt**. 2007. Evidence for a founder effect after introduction of Tomato yellow leaf curl virus-Mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution* 65 (1):112-118.
- 27- Mahmoud, A., M. Royer, M. Granier, E. D. Ammar, and **M. Peterschmitt**. 2007. High genetic identity between RNA 3 segments of an Old World isolate and a New World isolate of Maize stripe virus. *Archives of Virology* 152 (8):1583-1586.
- 28- Mahmoud, A., M. Royer, M. Granier, E. D. Ammar, J. C. Thouvenel, and **M. Peterschmitt**. 2007. Evidence for a segmented genome and partial nucleotide sequences of maize yellow stripe virus, a proposed new tenuivirus. *Archives of Virology* 152 (9):1757-1762.

- 29- Pellegrin, F., M. Mnari-Hattab, A. Tahiri, C. Dalleau-Clouet, **M. Peterschmitt**, and O. Bonato. 2008. First report of simultaneous presence of Tomato yellow leaf curl Sardinia virus and Tomato yellow leaf curl Israel virus infecting crops and weeds in Tunisia. *Journal of Plant Pathology* 90 (1):145-145.
- 30- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, H. Delatte, and **M. Peterschmitt**. 2008. Genetic structure of the invasive pest *Bemisia tabaci*: evidence of limited but persistent genetic differentiation in glasshouse populations. *Heredity* 100 (3):316-325.
- 31- Urbino, C., G. Thebaud, M. Granier, S. Blanc, and **M. Peterschmitt**. 2008. A novel cloning strategy for isolating, genotyping and phenotyping genetic variants of geminiviruses. *Virology Journal* 5:10.
- 32- Varsani, A., D. N. Shepherd, A. L. Monjane, B. E. Owor, J. B. Erdmann, E. P. Rybicki, **M. Peterschmitt**, R. W. Briddon, P. G. Markham, S. Oluwafemi, O. P. Windram, P. Lefevre, J. M. Lett, and D. P. Martin. 2008. Recombination, decreased host specificity and increased mobility may have driven the emergence of maize streak virus as an agricultural pathogen. *Journal of General Virology* 89:2063-2074.
- 33- Ammar, E. D., D. Gargani, J. M. Lett, and **M. Peterschmitt**. 2009. Large accumulations of maize streak virus in the filter chamber and midgut cells of the leafhopper vector *Cicadulina mbila*. *Archives of Virology* 154 (2):255-262.
- 34- Reynaud, B., H. Delatte, **M. Peterschmitt**, and D. Fargette. 2009. Effects of temperature increase on the epidemiology of three major vector-borne viruses. *European Journal of Plant Pathology* 123 (3):269-280.
- 35- Harkins, G. W., D. P. Martin, S. Duffy, A. L. Monjane, D. N. Shepherd, O. P. Windram, B. E. Owor, L. Donaldson, T. van Antwerpen, R. A. Sayed, B. Flett, M. Ramusi, E. P. Rybicki, **M. Peterschmitt**, and A. Varsani. 2009. Dating the origins of the maize-adapted strain of maize streak virus, MSV-A. *Journal of General Virology* 90:3066-3074.

4.3 Chapitres d'ouvrages

- 1- Rott, P., **Peterschmitt, M.** (2000). Streak. In *A guide to sugarcane diseases*, pp. 259-264. Edited by P. Rott, R. A. Bailey, J. C. Comstock, B. J. Croft & A. S. Saumtally. Montpellier: CIRAD, ISSCT.
- 2- Ammar, E. D., **Peterschmitt, M.** (2004). Maize yellow stripe. In *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*, pp. 682-687. Edited by H. Lapierre & P. A. Signoret. Paris: INRA.
- 3- **Peterschmitt, M.**, & Rott, P. (2004). Sugarcane streak virus diseases. In *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*, pp. 711-714. Edited by H. Lapierre & P. A. Signoret. Paris: INRA.
- 4- **Peterschmitt, M.** (2004). Maize streak diseases. In *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*, pp. 671-675. Edited by H. Lapierre & P. A. Signoret. Paris: INRA.
- 6- **Peterschmitt, M.** (2004). Bamboo mosaic virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 7- **Peterschmitt, M.** (2004). Chrysanthemum B virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 8- **Peterschmitt, M.** (2004). Chrysanthemum stunt viroid. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 9- **Peterschmitt, M.** (2004). Cucumber green mottle mosaic virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer* (Cd-Rom), p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.

- 10- **Peterschmitt, M. (2004).** Cucumber vein yellowing virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 6. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 11- **Peterschmitt, M. (2004).** Hibiscus chlorotic ringspot virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 4. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 12- **Peterschmitt, M. (2004).** Hibiscus latent ringspot virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 4. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 13- **Peterschmitt, M. (2004).** Impatiens necrotic spot virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 6. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 14- **Peterschmitt, M. (2004).** Lettuce necrotic yellow virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 15- **Peterschmitt, M. (2004).** Potato yellow mosaic virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 6. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 16- **Peterschmitt, M. (2004).** Tobacco etch virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 8. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 17- **Peterschmitt, M. (2004).** Tobacco leaf curl virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 6. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 18- **Peterschmitt, M. (2004).** Tomato aspermy virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 7. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 19- **Peterschmitt, M. (2004).** Tomato bushy stunt virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 5. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 20- **Peterschmitt, M. (2004).** Tomato spotted wilt virus. In *Analyses de risque phytosanitaire : appui à la rédaction de la réglementation spécifique aux départements d'outre-mer*, p. 8. Edited by X. Mourichon, R. Camou & P. Ehret. Montpellier: CIRAD.
- 21- Delatte, H., Lett, J. M., Lefeuvre, P., Reynaud, B., **Peterschmitt, M.** (2007). An insular environment before and after TYLCV introduction. In *Tomato yellow leaf curl virus disease : Management, molecular biology, breeding for resistance*, pp. 13-23. Edited by H. Czosnek. Dordrecht: Springer [Pays-Bas].

4.4 Articles dans des revues sans comité de lecture

- 1- **Peterschmitt, M.**, Chatenet, M. & Baudin, P. (1987). Diagnosis of maize viruses by ELISA. *EPPO* **17**, 307.
- 2- **Peterschmitt, M.**, Chatenet, M. & Baudin, P. (1987). Application de la méthode ELISA au diagnostic des viroses du maïs. *l'Agronomie Tropicale* **42**, 131-138.
- 3- **Peterschmitt, M.**, D.V.R. Reddy, L.K. Mughogho, and T.B. Garud. (1991). Identification and characterization of a potyvirus. In *Cereals Program, Annual Report*. Patancheru, Andhra Pradesh, India.: ICRISAT.

CHAPITRE 4 : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- 4- Jourdan-Ruf, C., Marchand, J. L., **Peterschmitt, M.** & Reynaud, B. (1994). Dossier: Les viroses de la striure, du stripe et de la mosaïque sur le maïs dans les régions tropicales (Afrique et îles de l'Océan Indien). *Agriculture et Développement* **4**, 1-15.
- 5- **Peterschmitt, M.**, Granier, M., Frutos, R., Isnard, M. & Reynaud, B. (1995). Séquence du génome d'un clone infectieux de Maize streak virus (MSV) de la Réunion génétiquement distinct des isolats africains. *Agronomie* **15**, 497.
- 6- Bigarre, L., Granier, M., Reynaud, B., Nicole, M. & **Peterschmitt, M.** (1995). Localisation in situ du Maize streak virus (MSV) dans un hybride sensible de maïs et une lignée résistante. *Agronomie* **15**, 506.
- 7- Dalmon, A., **M. Peterschmitt**, M. Cailly, O. Dufour, M. Jeay, and A Baguet. (2000). La maladie de feuilles jaunes en cuillère de la tomate. Une grave virose due au TYLCV, introduite accidentellement en France. *Phytoma* 527:10-13.
- 8- Lett J.-M., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2001). Les mécanismes de la transmission circulante des virus des plantes par insectes piqueurs-suceurs. *Virologie* 5, 169- 181.
- 9- Reynaud, B., Wuster, G., Delatte, H., Soustrade, I., Lett, J.-M., Gambin, O. & **Peterschmitt, M.** (2003). Les maladies à bégomovirus chez la tomate dans les départements français d'Outre-Mer : 2. Le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) à la Réunion. *Phytoma* **562**, 13-17.
- 10- Adjata, K.D., E. Muller, **M. Peterschmitt**, M. Aziadekey, and Y.M.D. Gumedzoe. 2008. Incidence of cassava viral diseases and first identification of East African cassava mosaic virus by PCR in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) fields in Togo. *American Journal of Plant Physiology* 3 (2):73-80.
- 11- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, and **M. Peterschmitt**. (2008). Limited but persistent genetic differentiation among biotype Q of Bemisia tabaci, the only biotype detected in protected crops in Southern France. *Journal of Insect Science* 8:15-16.

4.5 Communication à des congrès

- 1- **Peterschmitt, M.**, Chatenet, M. & Baudin, P. (1986). Mais : Diagnostic sérologique de 3 viroses. *Colloque de la Société Française de Phytopathologie*. Versailles, France, 13-14 Novembre 1986.
- 2- **Peterschmitt, M.** & Sommermeyer, G. (1988). Diagnostic de différents serotypes de Maize streak virus par anticorps monoclonaux. *Second ISSCT Pathology Workshop*. Montpellier, France, 11-16 April 1988.
- 3- Reynaud, B. & **Peterschmitt, M.** (1992). Study of the mode of transmission of Maize streak geminivirus by *Cicadulina mbila* using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Conference of the Association of Applied Biologists- Plant virology in the tropics*, York, United Kingdom, 9-10 April 1992.
- 4- **Peterschmitt, M.**, Granier, M., Reynaud, B. & Frutos, R. (1994). Infectivity and complete nucleotide sequence of the genome of an isolate of Maize streak virus from Reunion Island. *Seventh International Symposium on Molecular Plant-Microbe Interactions*, Edimbourg, United Kingdom, 26 June- 1 July 1994.
- 5- Bigarré, L., Granier, M., Reynaud, B., Nicole, M. & **Peterschmitt, M.** (1995). Localisation in situ du Maize streak virus (MSV) dans un hybride sensible de maïs et une lignée résistante. *Conférence sur les maladies virales des poacées en Europe*. Versailles, France, 15-18 Mai 1995.
- 6- **Peterschmitt, M.**, Granier, M., Frutos, R., Isnard, M. & Reynaud, B. (1995). Séquence du génome d'un clone infectieux de maize streak virus (MSV) de la Réunion, génétiquement distinct des isolats africains. *Conférence sur les maladies virales des poacées en Europe*. Versailles, France, 15-18 Mai 1995..

CHAPITRE 4 : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- 7- **Peterschmitt, M.**, Granier, M., Frutos, R., Isnard, M. & Reynaud, B. (1995). Séquence du génome d'un clone infectieux de Maize Streak Virus (MSV) de la Réunion, génétiquement distinct des isolats africains. *Rencontres de virologies végétale*. Aussois, France, 23-27 Janvier 1995.
- 8- Bigarré L, Granier M., Nicole M., **Peterschmitt M.** (1996). Localisation *in situ* du maize streak virus (MSV) dans un hybride sensible de maïs et dans une lignée résistante. *Congrès de la Société Française de Phytopathologie*, Nice, France, 19 - 22 Novembre 1996.
- 9- Reynaud B., Lett J.M., Lan Sun Luk D., Molinaro F., Granier M, **Peterchmitt M.** (1997). Electrical Penetration graphs from *Cicadulina mbila* on a susceptible maize hybrid and the fine structure of its stylet pathways. *9th International Auchenorrhyncha Congress*. Sydney, Australia, February 17-21 1997.
- 10- Isnard M., Granier M, Frutos R, Reynaud B., **Peterschmitt M.** (1997). Analyses moléculaires et pathogéniques de clones issus de 3 isolats de maize streak virus provenant de l'île de La Réunion. *Sixième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 9-13 Mars 1997.
- 11- Isnard M., Granier M, Frutos R, Reynaud B., **Peterschmitt M.** (1997). The quasi-species nature of maize streak virus: Molecular analysis and aggressiveness of three viral isolates. *International workshop on molecular epidemiology and evolutionary genetics of pathogenic microorganisms*, CDC, CNRS, ORSTOM. Montpellier, France, May 26-28, 1997.
- 12- Mahmoud A., Royer M., Granier M., Ammar E.D., Thouvenel J.C., **Peterschmitt M.** (1997) Biological and molecular characterization of the leafhopper-borne maize yellow stripe tenuivirus from Egypt. *10th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Montpellier, France, June 1-5, 1997.
- 13- Legavre T., Guiderdoni E., **Peterschmitt M.**, Michaux Ferrière N., Teisson C. (1997). Leftward transcriptional activity of the maize streak virus promoter: vascular tissue specificity in transgenic rice. *Maize streak disease Symposium*, ARC-Grain Crops Institute. Hazyview, South Africa, September 9-11, 1997.
- 14- Isnard M., Granier M., Frutos R., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (1997). The quasispecies nature of the maize streak virus DNA. *Maize streak disease Symposium*, ARC-Grain Crops Institute. Hazyview, South Africa, September 9-11, 1997.
- 15- **Peterschmitt M.**, Mekdoud R., Granier M., Saurat C., Dalmon A., Vayssières J.F., Gambin O., Reynaud B (1998). First report of tomato yellow leaf curl virus in Reunion. *International Workshop on Bemisia and Geminiviruses*. San Juan, Puerto Rico, June 7-12, 1998.
- 16- **Peterschmitt M.**, Isnard M., Granier M., Bedford I., Frutos R., Reynaud B., Markham P. (1998). Molecular and biological studies of a maize streak virus population from Reunion used to assess maize cultivar response to infection. *International Workshop on Bemisia and Geminiviruses*. San Juan, Puerto Rico, June 7-12, 1998.
- 17- Lett J.M., Granier M., Grondin M., Escoute J., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (1999). Analyse moléculaire et cellulaire des mécanismes de transmission du Maize streak virus par *Cicadulina mbila*. *Septième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 14-18 Mars 1999.
- 18- Bigarré L., Chazly M., Salah M., Ibrahim M., Padidam M., Nicole M., **Peterschmitt M.**, Fauquet C., Thouvenel J.C. (1999). Les bégomovirus des Malvacées: Exemple du 'leaf curl' d'Égypte. *Septième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 14-18 Mars 1999.
- 19- **Peterschmitt M.**, Grondin M., Granier M., Thornary L., Delatte H., Reynaud B. (2001). Molecular and Biological diversity of *Bemisia tabaci* in Reunion Island. *European Whitefly Symposium*, Ragusa, Sicily, Italy. 27th Feb- 3rd March. 2001.
- 20- Lett J.M., Granier M, Grondin M., Turpin P, Molinaro F., Chiroleu F., **Peterschmitt M.**, Reynaud B. (2001). La transmission du Maize streak mastrevirus (Geminiviridae) par *Cicadulina mbila* Naude (Homoptera, Cicadellidae) sur maïs (*Zea mays* ssp; *mays*) I. Comportement alimentaire de la cicadelle. *Huitième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 11-15 mars 2001.

CHAPITRE 4 : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- 21- Lett J.M., Granier M., Hippolyte I., Grondin M., Royer M., Blanc S., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2001). La transmission du Maize streak mastrevirus (Geminiviridae) par *Cicadulina mbila* Naude (Homoptera, Cicadellidae) sur maïs (*Zea mays* ssp; *mays*) II. Dynamique du virus dans le vecteur. *Huitième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 11-15 mars 2001.
- 22- Alegria, O. M., Royer, M., Boussalem, M., Chatenet, M., **Peterschmitt, M.**, Girard, J.-C. & Rott, P. (2001). Diversité génétique du sugarcane mosaic virus (SCMV) au Congo et au Cameroun. *Huitième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 11-15 mars 2001.
- 23- Lett J.M., Granier M., Hippolyte I., Grondin M., Royer M., Blanc S., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2001). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative polymerase chain reaction. *3rd International Geminivirus Symposium: A meeting on plant single-stranded DNA viruses and their insect vectors*, Norwich, U.K., July 24- 28, 2001.
- 24- Lett J.M., Granier M., Grondin M., Turpin P., Molinaro F., Chiroleu F., **Peterschmitt M.**, Reynaud B. (2001). Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of the stylet pathways and consequences for the transmission efficiency of geminiviruses. *3rd International Geminivirus Symposium: A meeting on plant single-stranded DNA viruses and their insect vectors*, Norwich, U.K., July 24- 28, 2001.
- 25- Delatte H., Granier M., Lett J.M., Reynaud B., Ravololonandrianina J., Goldbach W. R., **Peterschmitt M.** (2002). Study of the pathosystem Begomovirus / *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mascarenes Archipelago. *XIIth International Congress of Virology*, Paris, France. July 27- August 1, 2002.
- 26- Lett J.M., Granier M., Hippolyte I., Grondin M., Royer M., Blanc S., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2002). Spatial and temporal distribution of geminiviruses in leafhoppers of the genus *Cicadulina* monitored by conventional and quantitative PCR. *XIIth International Congress of Virology*, Paris, France. July 27- August 1, 2002.
- 27- Lett, J.-M., Granier, M., Grondin, M., Turpin, P., Chiroleu, F., **Peterschmitt, M.** & Reynaud, B. (2002). Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for the transmission efficiency of geminiviruses. *XIIth International Congress of Virology*, Paris, France. July 27- August 1, 2002.
- 28- Delatte H., Granier M., Lett J.M., Goldbach R., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2003). Le pathosystème Begomovirus / *Bemisia tabaci* / tomate dans les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien. *9ème Rencontres de virologie végétale*, Aussois, France. 2 au 6 février 2006.
- 29- Delatte H., Granier M., Lett J.M., Goldbach R., Reynaud B., **Peterschmitt M.** (2003). Utilisation de marqueurs microsatellites pour l'étude de la répartition de deux biotypes de *Bemisia tabaci* (Gennadius) sur l'île de la Réunion. *9ème Rencontres de virologie végétale*, Aussois, France. 2 au 6 février 2006.
- 30- Gargani D., Turpin P., Lecoq J., Grondin M., Lett J.M., Dintinger J., **Peterschmitt M.**, Reynaud B. (2003). Etude du comportement alimentaire de *Peregrinus maidis* (Hemiptera, Delphacidae) sur maïs, par électropénétrographie et microscopie électrique à transmission. *9ème Rencontres de virologie végétale*, Aussois, France. 2 au 6 février 2006.
- 31- Dalmon, A., Cailly, M., Dufour, O., Gros, C., Cailly, A., **Peterschmitt, M.** & Goarant, G. (2003). Introduction du tomato yellow leaf curl virus en France métropolitaine: premières données épidémiologiques. *9ème Rencontres de virologie végétale*, Aussois, France. 2 au 6 février 2006.
- 32- Tahiri A., Laghchimi A., Sekkat A., Bennani A., Granier M., Delvare G., **Peterschmitt M.** (2003). Diversity of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Morocco and its potential to be vector of Tomato yellow leaf curl virus. *Third International Bemisia Workshop*, Barcelona, Spain, 17-20 March, 2003.
- 33- Delatte H., M. Granier, M. Grondin, J.M. Lett, R. Goldbach, B. Reynaud and **M. Peterschmitt** (2003). Study of the distribution of two biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Réunion Island using microsatellite markers. *Third International Bemisia Workshop*, Barcelona, Spain, 17-20 March, 2003.

- 34- Delatte, H., Dalmon, A., Rist, D., Soustrade, I., Wuster, G., Lett, J. M., Goldbach, R. W., **Peterschmitt, M.**, and Reynaud, B. (2003) Acquisition and transmission of TYLCV from tomato fruits by Bemisia tabaci. *Third International Bemisia Workshop*, Barcelona, Spain, 17-20 March, 2003.
- 35- Tahiri A., Siaty M., Laghchimi A., Sekkat A., Bennani A., Delvare G., **Peterschmitt M.** (2003) Flight activities of Bemisia tabaci in Southern Morocco and transmission of Tomato yellow leaf curl virus. *Advances in Plant Virology, AAB-CIRAD*, Montpellier, France. 29 September- 1st October.
- 36- Ammar E.D., Gargani D., Lett J.-M., **Peterschmitt M.** (2003). Large accumulations of Maize streak virus in epithelial cells of the filter chamber of the leafhopper vector Cicadulina mbila. *Advances in Plant Virology, AAB-CIRAD*, Montpellier, France. 29 September- 1st October.
- 37- Ammar E.D., Mahmoud A., Khelifa E., Granier M., **Peterschmitt M.** (2003). Evidence for multiplication of the leafhopper-borne Maize yellow stripe tenui-like virus in its vector and suggestion of a new genus for tenuiviruses. *Advances in Plant Virology, AAB-CIRAD*, Montpellier, France. 29 September- 1st October.
- 38- Delatte H., Naze F., Granier M., Reynaud B., **Peterschmitt M.** and Lett J.M. (2004). Tomato-infecting begomoviruses in the South Western islands of the Indian Ocean. *4th International Geminivirus Symposium*, Cape Town , South Africa, January 2004
- 39- Tahiri A., Sekkat A., Bennani A., Laghchimi A., Granier M., Delvare G., **Peterschmitt M.** (2004). Transmission du TYLCV sur tomate par une population naturelle de Bemisia tabaci (Gennadius): Détermination de la proportion d'individus actifs. *Cinquième congrès de l'association marocaine de protection des plantes*, Rabat, Maroc. 30-31 Mars 2004.
- 40- Delatte H., Naze F., Granier M., Reynaud B., **Peterschmitt M.**, Lett J.M. (2005). Caractérisation moléculaire de deux nouvelles espèces de Begomovirus monopartite infectant la tomate dans les îles du sud-ouest de l'Océan Indien. *Dixième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France. 6-10 mars 2005.
- 41- Tahiri A., Sekkat A., Bennani A., Delvare G., Granier M., **Peterschmitt M.** (2005). Distinction de deux situations épidémiologiques au nord et au sud du maroc en ce qui concerne le TYLC. *Dixième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 6-10 mars 2005.
- 42- Lett J.M., Couston L., Nucci L., Naze F., Grondin M., **Peterschmitt M.**, Reynaud B. (2005) Mode de transmission du TYLCV-Mld[Re] par le biotype B de Bemisia tabaci : Persistance, dynamique et test de la transmission transovarienne. *Dixième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France, 6-10 mars 2005.
- 43- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, and **M. Peterschmitt**. (2008). Limited but persistent genetic differentiation among biotype Q of Bemisia tabaci, the only biotype detected in protected crops in Southern France. *Fourth International Bemisia Workshop*, Duck Key, Florida, USA. 7-8 December, 2006.
- 44- Tahiri A., Tchicaya E., Sekkat A., Delvare G., **Peterschmitt M.** (2007). Augmentation brutale de la pression d'inoculum du Tomato yellow leaf curl virus. *Onzième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France. 28 janvier au 1er février 2007.
- 45- Urbino C., Granier M., Macia J.L., Froissart R., Blanc S., **Peterschmitt M.** (2007). Fréquence de mutation et production de molécules défectives chez le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). *Onzième Rencontre de Virologie Végétale*, Aussois, France. 28 janvier au 1er février 2007.
- 46- Arno, J., Gabarra, R., Estopa, M., Gorman, K., **Peterschmitt, M.**, Bonato, O., Vosman, B., Hommes, M. & Albajes, R. (2008). Evaluation of tools to manage whiteflies in European tomato crops. *Conference Endure: Diversifying Crop Protection*, . La Grande Motte, France. 12-15 octobre 2008.
- 47- Urbino, C., Thébaud, G., Granier, M., Macia, J. L., Blanc, S. & **Peterschmitt, M.** (2009). Fréquence de mutation du Tomato yellow leaf curl virus et évaluation du phénotype des mutants à l'aide d'une

CHAPITRE 4 : PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

stratégie innovante de clonage In *12èmes Rencontres de virologie végétale*. Aussois, France. 18 au 22 janvier 2009.

- 48- Vuillaume, F., Urbino, C., Granier, M., Blanc, S. & **Peterschmitt, M.** (2009). Impact de la recombinaison dans l'évolution de la pathogénie du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). *12èmes Rencontres de virologie végétale*. Aussois, France. 18 au 22 janvier 2009.
- 49- Vuillaume, F., Urbino, C., Granier, M., Blanc, S. & **Peterschmitt, M.** (2009). Fitness spectrum of randomly recombined viral genomes. Conférences Jacques Monod. Understanding emergence of infectious diseases : focus on new experimental and theoretical approaches to virus evolution. Roscoff, France, 26- 30 septembre 2009.